

Fr 6103 B

CRYPTOGAMIE

MYCOLOGIE

TOME 5 Fascicule 2 1984

LABORATOIRE DE CRYPTOLOGAMIE
MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
12 RUE DE BUFFON, 75005 PARIS



SOMMAIRE

PONS F. et GIANINAZZI-PEARSON V. – Influence du phosphore, du potassium, de l'azote et du pH sur le comportement <i>in vitro</i> de champignons endomycorhizogènes à vésicules et arbuscules.	87
MORENO G. y BARRASA J.M. – <i>Agrocybe setulosa</i> sp. nov. en España (Bolbitiaceae, Agaricales)	101
NAJIM L., CLAUZET J.P. et KADIRI M. – Contribution à l'étude de la flore fongique microscopique du Maroc. I. – Le genre <i>Gonatobotrys</i> : quelques aspects morphologiques et physiologiques	109
ROQUEBERT M.F. et MINTER D. – Modifications structurales de la paroi liées à l'environnement	121
SUBRAMANIAN C.V. and BHAT D.J. – Developmental morphology of Ascomycetes. XI. <i>Nectria kera</i>	135
ANGELI-PAPA J. – La culture d'un champignon par les fourmis Attines. Mise en évidence de phénomènes d'antibiose dans le nid.	147

856103B

CRYPTOGAMIE

MYCOLOGIE

TOME 5 Fascicule 2 1984

Ancienne Revue de Mycologie. Dirigée par Roger HEIM

DIRECTEUR DE LA PUBLICATION : Madame J. NICOT.
ADMINISTRATION : Mme LOCQUIN-LINARD M. et M. ZAMBETTAKIS Ch.
SECRÉTAIRE DE RÉDACTION : Mme M.C. BOISSELIER, ÉDITEUR : A.D.A.C.

Copyright © 1984. Cryptogamie Mycologie



Bibliothèque Centrale Muséum



3 3001 00227785 2

Source : MNHN, Paris

CRYPTOGAMIE MYCOLOGIE

CONTENTS

(Tome 5, Fascicule 2, 1984)

PONS F. et GIANINAZZI-PEARSON V. – Influence of phosphorus, potassium, nitrogen and pH on vesicular-arbuscular endomycorrhizal fungi <i>in vitro</i>	87
MORENO G. y BARRASA J.M. – <i>Agrocybe setulosa</i> sp. nov. in Spain. (Bolbitiaceae Agaricales)	101
NAJIM L., CLAUZET J.P. et KADIRI M. – Contribution to a study of microscopical fungal flora of Morocco. 1. The genus <i>Gonatobotrys</i> : some morphological and physiological aspects.	109
ROQUEBERT M.F. et MINTER D. – Structural changes of the wall.	121
SUBRAMANIAN C.V. and BHAT D.J. – Developmental morphology of Ascomycetes. XI. <i>Nectria kera</i>	135
ANGELI-PAPA J. – Fungus-culturing by Attine ants (<i>Attini</i>). Antibiotic control of the microflora of the nest.	147

INFLUENCE DU PHOSPHORE, DU POTASSIUM, DE L'AZOTE
 ET DU PH SUR LE COMPORTEMENT *IN VITRO*
 DE CHAMPIGNONS ENDOMYCORRHIZOGÈNES
 A VÉSICULES ET ARBUSCULES

par Françoise PONS et Vivienne GIANINAZZI-PEARSON*

RÉSUMÉ. — Le comportement des champignons endomycorhizogènes à vésicules et arbuscules *Glomus mosseae*, *G. epigaeus* et *Gigaspora margarita*, caractérisés par un bon pouvoir germinatif des spores, n'est pas influencé *in vitro* de façon analogue par les modifications du milieu. La concentration élevée en phosphore soit sous forme de KH_2PO_4 ou K_2HPO_4 n'inhibe pas la germination des spores de *G. margarita*, alors que les fortes concentrations diminuent la germination des spores de *G. epigaeus* comme la croissance de ses hyphes. Cependant, chez *G. margarita*, les fortes concentrations en K_2HPO_4 provoquent des perturbations dans la façon dont les spores germent (augmentation du nombre de tubes germinatifs) et inhibent aussi la croissance des hyphes de ce champignon. De plus l'addition de phosphore au milieu augmente la vitesse dans les hyphes des courants cytoplasmiques vers les spores. La germination des spores et la croissance des hyphes de *G. mosseae* diminuent en présence de KH_2PO_4 , indépendamment de la concentration de ce sel, tandis que K_2HPO_4 n'a pas d'effet négatif même à des concentrations élevées. L'azote n'a un effet inhibiteur qu'à fortes doses sous la forme de NH_4NO_3 uniquement chez *G. epigaeus* alors qu'il ne perturbe pas la germination et la croissance des hyphes lorsqu'il est apporté sous la forme de KNO_3 ou NH_4Cl . Les pH acides inhibent la germination des spores ainsi que la croissance des hyphes de *G. mosseae* tandis que *G. epigaeus* et *G. margarita* ne montrent pas une sensibilité semblable à des variations du pH du milieu.

SUMMARY. — The vesicular-arbuscular endomycorrhizal fungi *Glomus mosseae*, *G. epigaeus* and *Gigaspora margarita* are not influenced in the same way by modifications in the agar medium used to germinate their spores. High phosphorus concentrations, in the form of KH_2PO_4 or K_2HPO_4 , do not inhibit spore germination by *G. margarita* whilst they decrease both spore germination and hyphal growth of *G. epigaeus*. High amounts of K_2HPO_4 do, however, cause alterations in the pattern of spore germination of *G. margarita* (increased number of germ tubes), and also inhibit hyphal growth by this fungus; furthermore, cytoplasmic streaming towards the spore increases in hyphae with phosphate additions to the agar medium. All concentrations of KH_2PO_4 used inhibit both spore germination and hyphal growth of *G. mosseae* whilst K_2HPO_4 has no negative effect even at high concentrations. High concentrations of nitrogen in the form of NH_4NO_3 , but not KNO_3 or NH_4Cl , have a negative effect only on *G. epigaeus*. Low pHs inhibit spore germination and hyphal growth of *G. mosseae*, whilst *G. epigaeus* and *G. margarita* do not show a similar sensitivity to variations in pH.

* Laboratoire de Phytoparasitologie, Station d'Amélioration des Plantes, I.N.R.A. B. V. 1540, 21034 Dijon Cedex.

MOTS CLÉS : P, K, N, pH, champignons endomycorhizogènes, spores.

INTRODUCTION

Les champignons endomycorhizogènes à vésicules et arbuscules (VA) sont capables de réaliser la symbiose avec les racines d'un nombre considérable d'espèces végétales, en particulier les plantes agricoles. Cette association se révèle très efficace quant à la croissance des végétaux dans les sols relativement pauvres en éléments minéraux (MOSSE, 1972), mais son effet diminue si on compense la mauvaise fertilité du sol par un apport d'engrais phosphatés (SANDERS & TINKER, 1973; ASIMI & al., 1979). De nombreux travaux ont pour objet la connaissance de la plante mycorhizée considérée dans son ensemble (MOSSE, 1978; voir GIANINAZZI & al., 1982). Il serait pourtant intéressant de considérer le champignon seul dans la mesure où il est le point de départ de l'infection dans le sol. On ne sait pas encore réaliser de cultures pures de champignons endomycorhizogènes VA, au delà de la germination de leurs spores de conservation. Toutefois, les quelques observations faites à ce propos dans le cas de diverses espèces à spores germant sur différents milieux synthétiques ou contenant des extraits de sol, indiquent que, bien qu'appartenant à une famille très restreinte, ces champignons ont des exigences très précises quant aux pHs, température et concentrations de phosphate du milieu (GREEN, GRAHAM & SCHENK, 1976; DANIELS & GRAHAM, 1976; SIQUEIRA, HUBBELL & SCHENK, 1982; HEPPEL, 1983). Afin de mieux connaître les conditions écologiques qui influenceraient le comportement des champignons endomycorhizogènes VA dans le sol, nous avons étudié l'effet du pH et de divers sels de phosphate, de potassium et d'azote sur la capacité de germination des spores et la croissance mycélienne de trois espèces de ces champignons.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les cultures de chaque espèce de champignon sont entretenues en utilisant comme plante-hôte l'oignon (*Allium cepa* L. var Hyper). Ces plantes sont mycorhizées dans du sol prélevé sur le Domaine d'Époisses de l'INRA de Dijon, ayant un pH de 7,0 à 7,8 et préalablement irradié aux rayons γ (1 Mrad). Les spores de conservation des champignons endomycorhizogènes VA sont récoltées à l'intérieur de sporocarpes attachés aux racines (*Glomus mosseae* (Nicol. et Gerd.) Gerdemann et Trappe), à la surface de la terre (*G. epigaeus*, Daniels et Trappe), au niveau du mycélium attaché aux racines (*Acaulospora laevis*, Gerdemann et Trappe), et dans la terre entourant les racines (*Gigaspora margarita*, Becker et Hall), (GERDEMANN & TRAPPE, 1974; BECKER & HALL, 1976; DANIELS & TRAPPE, 1979). Les spores sont utilisées immédiatement sauf *G. mosseae* pour lequel il est nécessaire de laisser les sporocarpes à 8°C pendant quatre semaines à l'obscurité, afin d'obtenir un bon taux de germination des spores.

Les spores sont désinfectées dans le mélange décrit par MOSSE (1959) (pour *G. margarita* nous avons utilisé 400 mg de sulfate de streptomycine/l) pendant 15 minutes puis rincées soigneusement à l'eau distillée stérile.

Les spores sont ensuite repiquées sur eau gélosée 0,5 % (pH 6,8) (Difco Bacto agar) seule ou additionnée de différents sels. Dans les expériences sur l'effet du phosphore et du potassium nous avons utilisé des milieux contenant 25, 50, 100 ou 200 ppm de phosphore sous forme de KH_2PO_4 (pH 5,8 à 5,9) et $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (pH 7,8 à 7,9). L'influence du pH est étudiée sur des milieux contenant 50 ppm de phosphore à pH 5,8, 6,2, 6,8, 7,5 ou 7,8 obtenus par des mélanges appropriés de KH_2PO_4 et $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. Pour les expériences sur l'azote nous avons préparé des milieux avec 25, 50 et 100 ppm d'azote sous forme KNO_3 , NH_4NO_3 ou NH_4Cl .

Les spores sont mises à germer à l'obscurité dans une étuve à 24°C, et pour *G. epigaeus* aussi à 20°C. La germination des spores a été suivie *in vitro* à l'aide du microscope optique et le comptage effectué périodiquement sur une population de spores jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de spores qui germent. Les mesures de la distance maximale atteinte par les hyphes, sont déterminées à l'aide d'un micromètre oculaire. Les courants cytoplasmiques ont été aussi estimés à l'aide d'un micromètre oculaire en mesurant la vitesse du déplacement du contenu granulaire des hyphes (environ à mi-distance entre l'apex et la spore) sur une longueur donnée. Les résultats ont été analysés statistiquement par la méthode de calcul de χ^2 ou le test « t » de Student.

RÉSULTATS

1. — POUVOIR GERMINATIF DES SPORES, CULTIVÉES SUR EAU GÉLOSÉE

Les spores récoltées dans les conditions décrites ci-dessus sont toutes capables de germer sur eau gélosée. Quelques caractéristiques des lots de spores étudiés dans nos expériences sont indiquées dans le tableau 1.

Tableau 1. — Diamètre des spores et section des hyphes au début de la germination des champignons endomycorhizogènes VA étudiés.

Table 1. — Spore and hyphae diameters of VA fungi at the beginning of spore germination.

	Diamètre des spores	Section des hyphes
<i>G. mosseae</i>	160 ± 32 μm	6 μm
<i>G. epigaeus</i>	108 ± 9 μm	4-8 μm
<i>G. margarita</i>	485 ± 35 μm	8-12 μm
<i>A. laevis</i>	221 ± 21 μm	6 μm

Nombre de répétitions : 30 à 40.

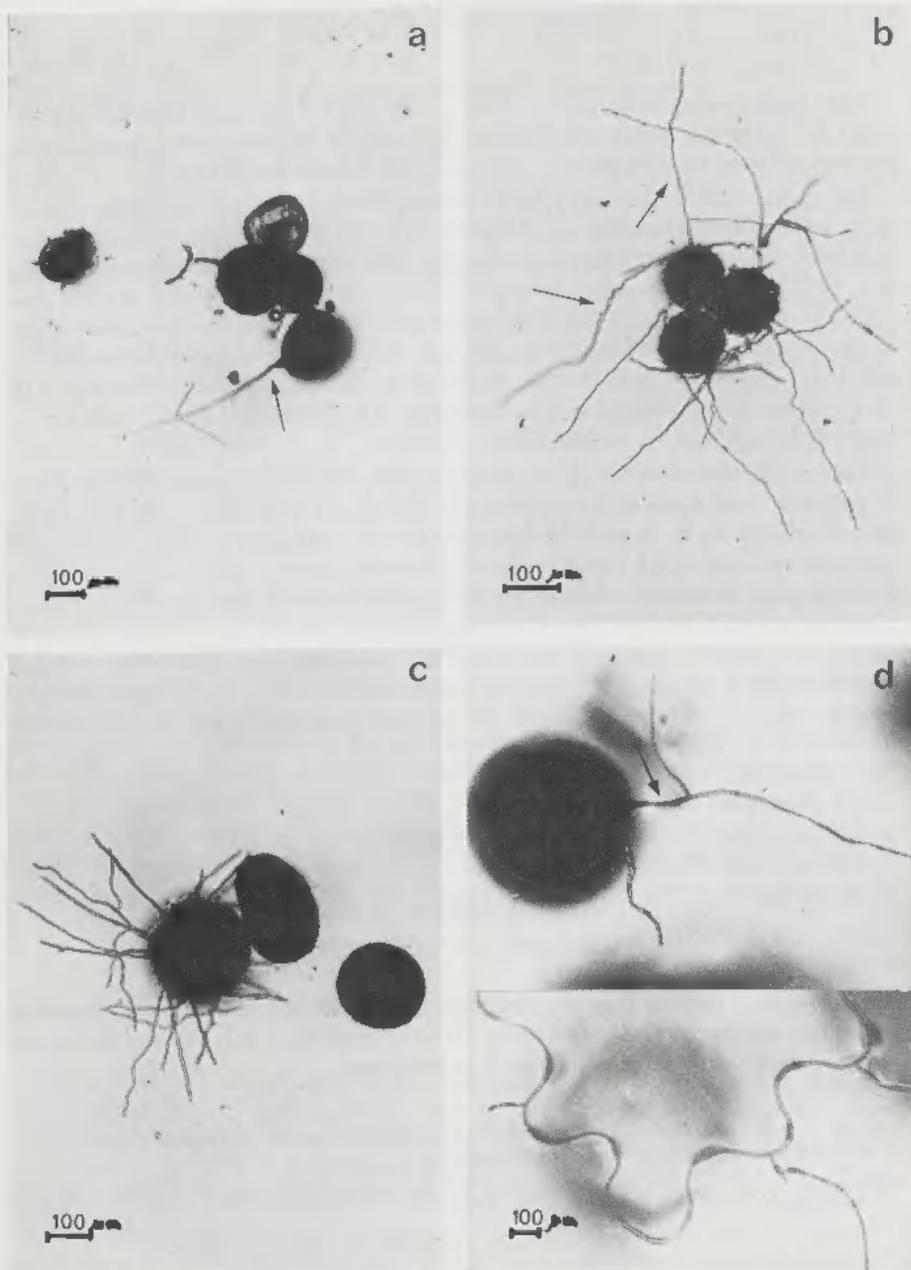


Planche 1 — Premiers stades de germination des spores de champignons endomycorhizo-
gènes VA sur eau gélifiée. a. *G. mosseae* : tube de germination en forme d'ancre émer-
geant de l'hyphe d'attachement (flèche). b. *G. epigaeus* : forme irrégulière des premières
hyphes (flèches) se développant à partir des spores. c. *A. laevis* : hyphes multiples émer-
geant de la paroi d'une spore. d. *G. margarita* : en haut, hyphes émergeant de la paroi
sporale (flèche) à côté de l'hyphe d'attachement; en bas, hyphe formant des méandres
sur l'agar.

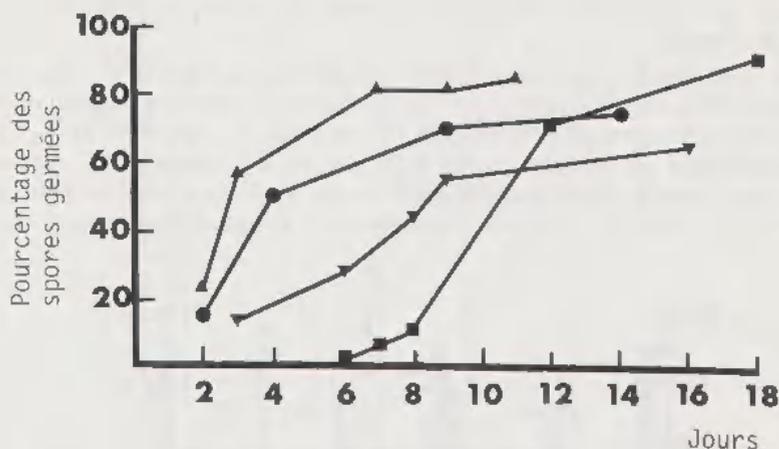


Figure 1. — Germination en fonction du temps, sur eau gélosée, des spores de (●) *G. mosseae*, (■) *G. epigaeus*, (▲) *G. margarita*, (▼) *A. laevis*.

Figure 1. — Germination with time on water agar of spores of (●) *G. mosseae*, (■) *G. epigaeus*, (▲) *G. margarita* and (▼) *A. laevis*.

La germination des spores de *G. mosseae*, *G. margarita* et *A. laevis* débute à partir de 2-3 jours à 24°C, tandis que les spores de *G. epigaeus* ne germent qu'à partir de 6-7 jours (Fig. 1). Dans la plupart de nos expériences, les spores de *A. laevis* étaient caractérisées par un taux de germination plus faible que celles de trois autres espèces et par conséquent nous n'avons pas étudié l'influence des modifications du milieu sur le comportement de ce champignon.

L'aspect des premiers stades de la germination sur eau gélosée de ces quatre espèces de champignons est très varié (Planche 1). Les tubes germinatifs de *G. mosseae* et *G. epigaeus* émergent de l'hyphe d'attachement (Planche 1a) qui les reliait au sporocarpie, tandis qu'ils émergent directement de la paroi sporale chez *G. margarita* et *A. laevis*. Les hyphes croissant sur le milieu ont également une forme particulière; pendant les trois premiers jours de la germination chez *G. mosseae*, les hyphes sont droites et se ramifient vers l'arrière en figurant une sorte «d'ancre»; chez *G. epigaeus*, les premières hyphes sont très irrégulières et présentent une succession de renflement et d'amincissements. Les hyphes d'*A. laevis* sont droites, celles de *G. margarita* poussent en formant des méandres à la surface de l'agar et s'enfoncent très vite dans celui-ci. Il est facile de dis-

Plate 1 — Early stages in spore germination by VA endomycorrhizal fungi on water agar.
 a. *G. mosseae* : anchor-shaped germ tube emerging from hyphal attachment. b. *G. epigaeus* : irregularly shaped hyphae (arrows) developing from spores. c. *A. laevis* : numerous hyphae emerging from the wall of a single spore. d. *G. margarita* : upper, hyphae emerging from spore wall (arrow) adjacent to the hyphal attachment; lower, wavy hyphal growth in agar.

tinguer ces espèces uniquement par la forme des hyphes au début de la germination (Planche 1).

De plus, après quatre à six jours ces différentes espèces de champignon peuvent produire des vésicules sur de courtes ramifications du mycélium. Elles sont soit sphériques et individuelles (*G. mosseae*, *G. epigaeus*, et *A. laevis*), soit sphériques et hérissées et groupées par 12 à 20 environ (*G. margarita*). Sur eau gélosée le développement ultérieur des hyphes est toujours plus important chez *G. margarita* que chez *G. mosseae* et *G. epigaeus* (Fig. 3, 5).

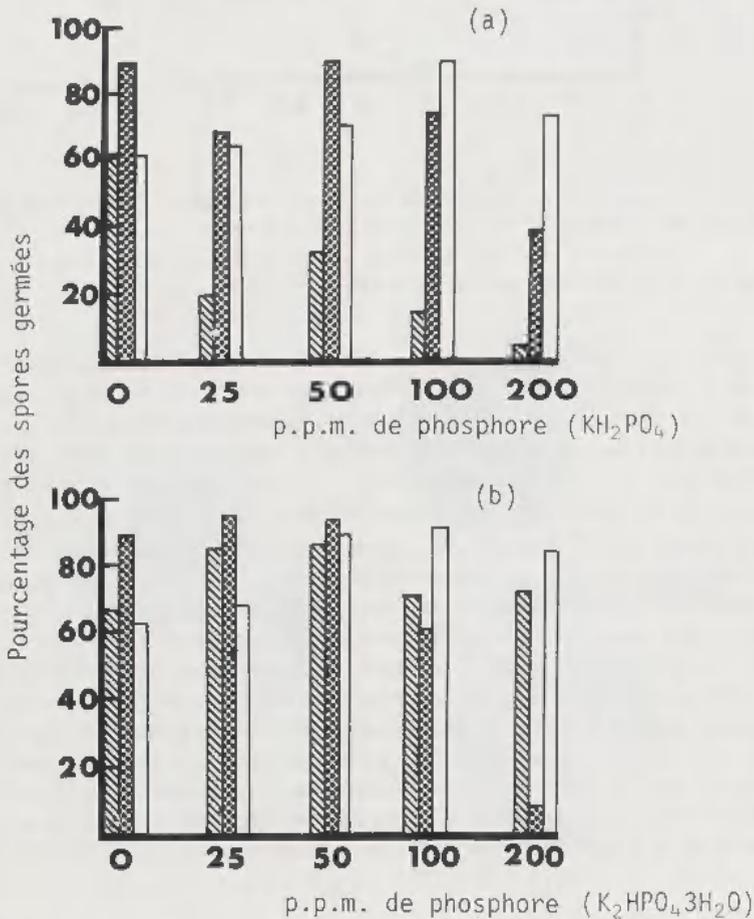


Figure 2. — Germination des spores de (▨) *G. mosseae*, (▩) *G. epigaeus* et (□) *G. margarita* en présence des concentrations croissantes en phosphore sous forme de (a) KH_2PO_4 ou (b) $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$.

Figure 2. — Germination of spores of (▨) *G. mosseae*, (▩) *G. epigaeus* and (□) *G. margarita* in presence of increasing concentrations of phosphorus in the form of (a) KH_2PO_4 and (b) $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$.

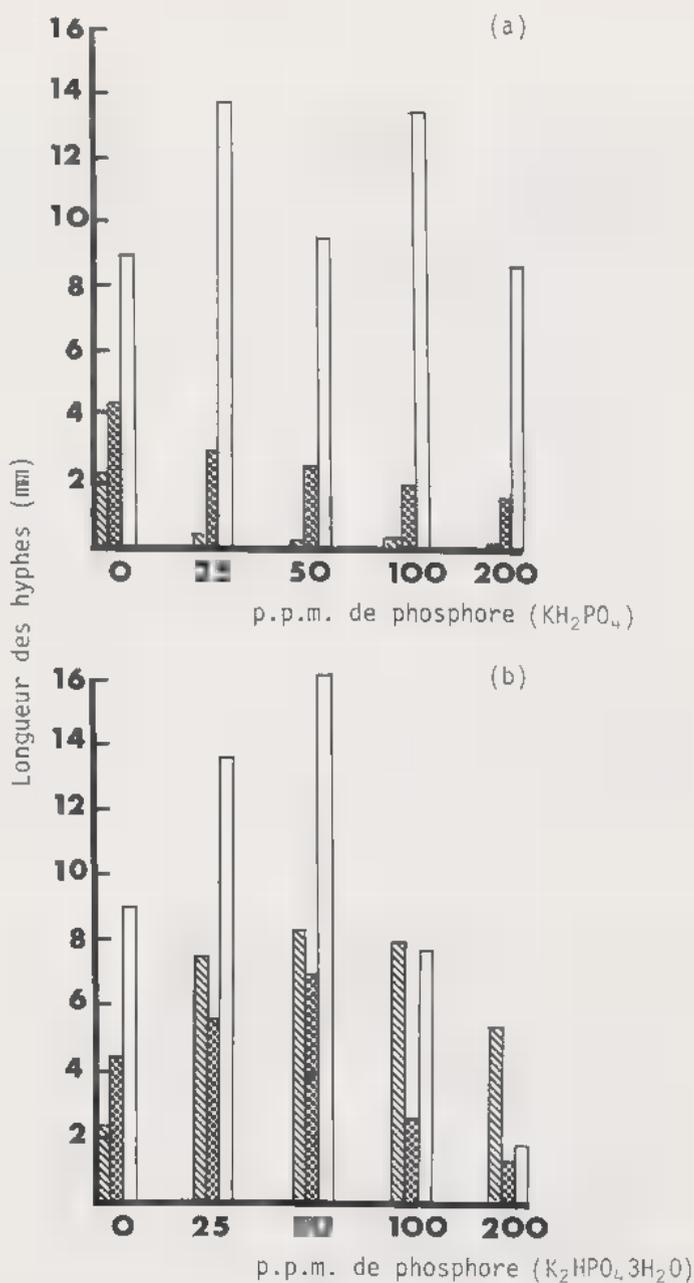


Figure 3. — Croissance des hyphes issues de spores de (▨) *G. mosseae*, (▩) *G. epigaeus* et (□) *G. margarita* placées sur des milieux à concentration croissante en phosphore sous forme de (a) KH_2PO_4 ou (b) $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$.

Figure 3. — Growth of hyphae from spores of (▨) *G. mosseae*, (▩) *G. epigaeus* and (□) *G. margarita* in presence of increasing concentrations of phosphorus in the form of (a) KH_2PO_4 and (b) $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$.

2. — EFFET DES MODIFICATIONS DU MILIEU SUR LA GERMINATION DES SPORES ET LE DÉVELOPPEMENT DES HYPHES

— Concentration en phosphore et potassium

Nous avons observé que les spores de *G. mosseae* germent toujours mieux sur les milieux contenant du K_2HPO_4 que sur ceux contenant du KH_2PO_4 (Fig. 2). Cette différence de comportement se manifeste dès les premiers stades de la germination (3 jours). En ce qui concerne *G. epigaeus*, les deux sels de phosphore (mono- et dipotassique) ont une influence semblable sur la germination des spores : les fortes concentrations (200 ppm en phosphore) des deux sels ont un effet significativement inhibiteur ($P < 0,05$).

Si nous considérons la croissance des hyphes de *G. mosseae* (Fig. 3), elle est comme la germination des spores beaucoup plus faible sur les milieux contenant du KH_2PO_4 que sur ceux additionnés de K_2HPO_4 ; il en est de même pour la croissance des hyphes de *G. epigaeus*, contrairement à la germination de ses spores. En présence de doses croissantes de K_2HPO_4 , le développement des hyphes de *G. mosseae* est amélioré, tandis que les hyphes de *G. epigaeus* voient leur croissance nettement inhibée par les fortes concentrations en phosphore (100 et 200 ppm).

Tableau 2 : Nombre moyen de tubes germinatifs par spore de *G. margarita* sur des milieux contenant des concentrations différentes en phosphore sous forme de KH_2PO_4 ou de $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$.

Table 2. — Average number of germ tubes produced per spore by *G. margarita* on agar media containing different concentrations of phosphorus as KH_2PO_4 or $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$.

	KH_2PO_4				K_2HPO_4				Témoin (eau gélosée)
ppm de phosphore :	25	50	100	200	25	50	100	200	
Expérience I :	1	1,3	1	1,8	0,5	1,8	9*	1,5	1,3
Expérience II :	1,3	1,9	1,8	2,8	1,8	3	7,7*	3,6	1,3

* Différence significative avec le témoin, $P < 0,05$.
Nombre de répétition : 12.

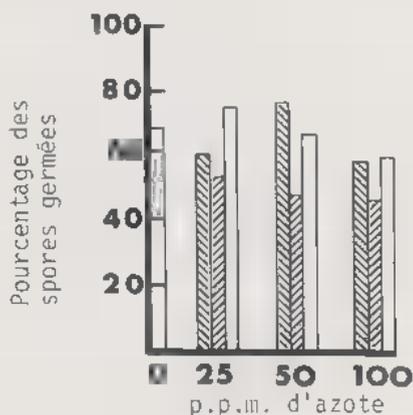
Dans le cas particulier de *G. margarita*, le comptage du taux de germination de spores donne les mêmes résultats sur les milieux contenant KH_2PO_4 ou K_2HPO_4 (Fig. 2). Cependant l'observation au microscope photonique révèle des comportements distincts de germination selon le type de sel phosphaté dans le milieu. A 100 ppm de phosphore sous forme de K_2HPO_4 , le nombre de tubes de germination augmente significativement (Tableau 2), alors qu'à 200 ppm la croissance de ces hyphes est minimale (Fig. 3); les hyphes se cloisonnent et meurent rapidement. Cet effet pourrait être dû aux concentrations plus élevées en potassium dans le milieu (505 ppm pour K_2HPO_4 par rapport à 252 ppm pour KH_2PO_4).

— Concentration en azote

Chez *G. margarita*, l'apport d'azote aux concentrations 25, 50, 100 ppm sous forme de KNO_3 , NH_4NO_3 et NH_4Cl ne modifie pas significativement le taux de germination par rapport au témoin (eau gélosée) et ne s'accompagne pas de perturbations du nombre de tubes germinatifs ni de leur aspect. Par contre chez *G. epigaeus*, le taux de germination diminue légèrement ($P < 0,05$) avec l'augmentation de la concentration en azote, mais uniquement quand ce dernier est présent sous forme combinée de nitrate d'ammonium (Fig. 4).

Figure 4. — Germination des spores de *G. epigaeus* en présence des concentrations croissantes en azote sous forme de (▨) KNO_3 , (▩) NH_4NO_3 , (□) NH_4Cl .

Figure 4. — Spore germination of *G. epigaeus* in presence of increasing concentrations of nitrogen in the form of (▨) KNO_3 , (▩) NH_4NO_3 and (□) NH_4Cl .



— pH

Les résultats obtenus sur l'influence du pH sur les différents champignons VA sont présentés dans la Figure 5. Ils mettent immédiatement en évidence la grande sensibilité de *G. mosseae* au pH du milieu ; la germination et la croissance des hyphes sont fortement inhibées à pH 5,8 ($P < 0,01$) alors qu'à pH 7,8, elles ne sont pas significativement différentes du témoin (pH 6,8). Cela explique les observations faites précédemment sur l'influence des deux sels phosphatés, les milieux contenant du KH_2PO_4 ont en effet un pH de 5,8 à 5,9 alors que ceux contenant du K_2HPO_4 ont un pH de 7,8 à 7,9. Chez *G. epigaeus*, cet effet est moins net ; il semble que les spores puissent germer et atteindre un pourcentage non significativement différent du témoin tant à pH 5,8 qu'à pH 7,5 et 7,8, bien que la germination diminue toujours à pH 6,2 et 6,8. Les raisons de cette diminution restent à déterminer. Cependant la croissance des hyphes de *G. epigaeus* est sensible au pH acide et elle est nettement meilleure à des pH neutres ou alcalins. Le cas de *G. margarita* doit être nuancé : en effet dans la Figure 5, on ne décele pas une influence significative du pH sur la germination des spores et la croissance des hyphes. Toutefois, si nous prenons en considération le nombre de tubes germinatifs par spore ainsi que le nombre de ces tubes qui sont viables (c'est-à-dire non segmentés ; Fig. 6), nous remarquons

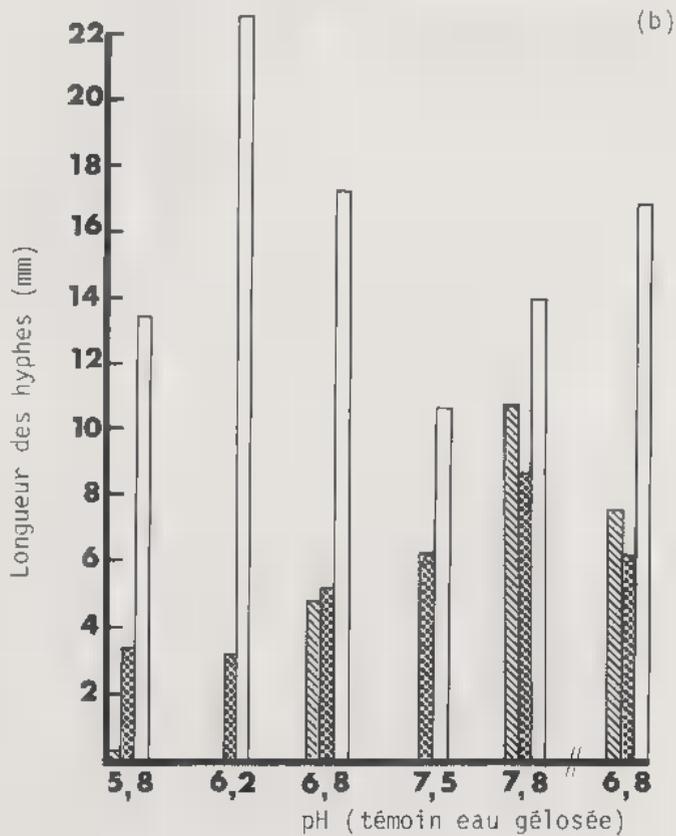
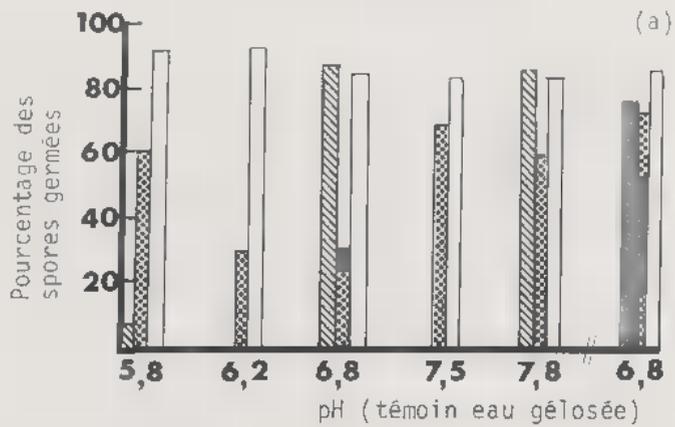


Figure 5. — Germination des spores (a) et croissance des hyphes (b) de (⊗) *G. mosseae*, (▨) *G. epigaeus* et (□) *G. margarita* sur des milieux à pH différents.

Figure 5. — Spore germination (a) and hyphal growth (b) of (⊗) *G. mosseae*, (▨) *G. epigaeus* and (□) *G. margarita* on agar medium at different pHs.

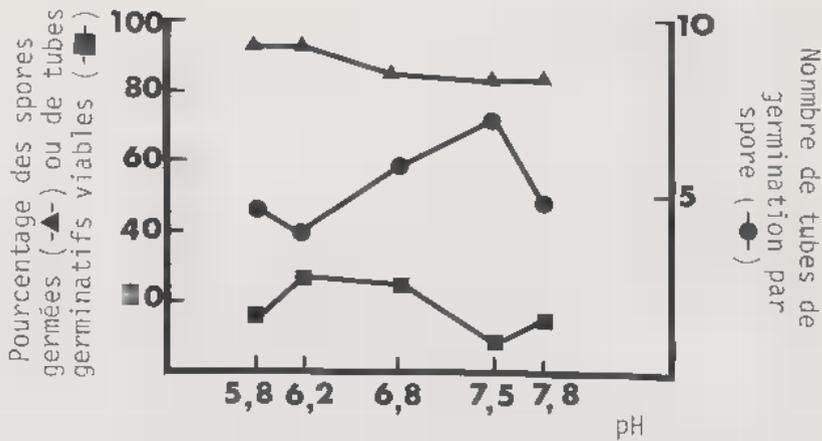


Figure 6. — Influence du pH du milieu sur (▲) la germination des spores, (●) le nombre de tubes de germination formés par chaque spore et (■) le pourcentage de tubes viables de germination chez *G. margarita*.

Figure 6. — Influence of pH on (▲) spore germination, (●) number of germ tubes formed per spore and (■) percentage of viable germ tubes of *G. margarita*.

qu'en général plus le nombre moyen de tubes germinatifs par spore est élevé, plus le pourcentage de tubes viables diminue; cet effet est maximal à pH 7,5. De plus les spores à germination multiple sont aussi celles pour lesquelles la croissance des hyphes est minimale sur le milieu gélosé.

Tableau 3. — Vitesse des courants cytoplasmiques dans les hyphes de *G. margarita* à différents pH ($\mu\text{m/s}$).

Table 3. — Effect of pH on cytoplasmic streaming ($\mu\text{m/s}$) in hyphae of *G. margarita*.

	Témoin ¹ (pH 6,8)	5,8 ²	6,2 ²	6,8 ²	7,5 ²	7,8 ²
vers l'apex	3,50	3,34	3,50	3,87	3,34	3,04*
vers la spore	3,05	3,72*	3,96*	3,90*	3,71*	4,18*

* Différence significative avec le témoin sans phosphore, $P < 0,05$.

Nombre de répétitions pour les témoins : 19 et les traitements entre 10 et 35.

1 : Eau gélosée, 2 : 50 ppm de phosphore.

Nous avons mesuré d'autre part la vitesse des courants cytoplasmiques dans les hyphes de *G. margarita* en fonction du pH du milieu (Tableau 3). Ces courants sont bidirectionnels, le courant revenant vers la spore est en général plus rapide. Le pH n'a pas d'effet sur ces courants cytoplasmiques, mais la présence

de 50 ppm de phosphore utilisés pour tamponner le milieu gélosé augmente sensiblement ($P < 0,05$) la vitesse des courants cytoplasmiques vers la spore, indépendamment du pH du milieu.

DISCUSSION

Dans le présent travail, nous avons pu mettre en évidence grâce au taux élevé de germination des spores de 3 des 4 champignons endomycorhizogènes VA étudiés, l'influence sur leur comportement de quelques facteurs du sol transposés ici en conditions aseptiques. Comme on pouvait s'y attendre, les champignons endomycorhizogènes VA montrent une variabilité non seulement au niveau du taux de germination de leurs spores, de la durée nécessaire pour que débute cette germination, et du développement général des hyphes, mais aussi au niveau de la sensibilité de ces processus vis-à-vis des différents facteurs du milieu tels que les éléments nutritifs (N, P, K) et le pH. Au niveau de la germination des spores, on observe que la concentration en phosphore du milieu n'a aucune influence sur le taux de germination de *G. margarita*. Par contre, la germination des spores est inhibée à des fortes concentrations (200 ppm) chez *G. epigaeus*; d'après les études de DANIELS & TRAPPE (1980) cet effet sur *G. epigaeus* est probablement atténué dans le sol. En ce qui concerne *G. mosseae*, on ne constate pas d'effet inhibiteur à toutes les concentrations de phosphore sous forme de K_2HPO_4 . Ces observations concordent avec celles faites par HEPPER (1983) qui a signalé que la germination des spores de *G. mosseae* n'est diminuée qu'à partir de 930 ppm de phosphore en solution dans le milieu. Toutefois, l'addition de phosphate soluble au milieu n'a aucun effet sur la germination de *G. mosseae* seulement si le pH est maintenu au-dessus de 6,8 et l'effet inhibiteur observé du KH_2PO_4 doit être attribué à l'acidification du milieu par l'addition de ce sel. En effet, la germination des spores de *G. mosseae* est très faible en milieu acide et optimale en milieu neutre ou alcalin; cette sensibilité au milieu acide des spores de *G. mosseae* avait été déjà soulignée par GREEN & al. (1976). Quant à la croissance des hyphes, nous constatons que celle-ci est inhibée comme pour la germination à des fortes concentrations de phosphore pour *G. epigaeus*, et que pour *G. mosseae* l'acidification du milieu en présence de KH_2PO_4 inhibe non seulement la germination des spores mais aussi la croissance des hyphes. Dans le cas de *G. margarita*, bien qu'on ne constate pas de modifications au niveau de la germination des spores, le nombre de tubes germinatifs formés ainsi que leur croissance sont modifiés en présence de concentrations élevées de K_2HPO_4 . L'influence particulière de ce sel sur le comportement de *G. margarita* n'est pas liée au pH du milieu car pour des concentrations identiques en phosphore la croissance des hyphes à pH 7,8 est comparable à celle à pH 5,8; par contre ces observations suggèrent pour la première fois la possibilité que certains champignons VA soient sensibles aux fortes concentrations en ions potassiques.

Ces travaux font aussi ressortir que l'apport de phosphore à raison de 50 ppm dans le milieu, qui ne modifie pas sensiblement la germination des spores et la croissance des hyphes, induit une augmentation importante (jusqu'à 37 %) de la vitesse en direction des spores des courants cytoplasmiques des hyphes de *G. margarita*. La signification physiologique de ce phénomène dans le transport du phosphore par les hyphes est à l'étude.

Ainsi non seulement le contenu en phosphore mais aussi le pH du milieu est un facteur important pour des champignons VA. Comme pour *G. mosseae*, les hyphes du *G. epigaeus* poussent mieux à pH élevé tandis que chez *G. margarita* l'augmentation du pH du milieu provoque une perturbation des processus de germination, en augmentant le nombre d'hyphes produites par chaque spore et en provoquant une mort plus rapide de ceux-ci. KOSKE (1982) suggère une possible relation entre la production élevée d'hyphes de germination de *G. margarita* et une plus forte probabilité d'infection de racines *in vitro*. Toutefois dans nos expériences récentes sur le trèfle *in vitro* (PONS & al. résultats non publiés) nous avons remarqué que l'infection rapide et massive des racines est possible à partir des spores n'ayant qu'une ou deux hyphes de germination.

Avec l'addition de différentes formes d'azote au milieu, seule la germination de *G. margarita* n'est pas modifiée alors que celle de *G. epigaeus* est diminuée lorsque l'azote est apporté sous forme de NH_4NO_3 à concentration de 100 ppm. L'insensibilité de la germination à des faibles taux de NH_4NO_3 avait été déjà soulignée par DANIELS & TRAPPE (1980) pour *G. epigaeus* et par SIQUEIRA & al. (1982) pour *G. margarita*.

En conclusion, cette étude réalisée sur le comportement des spores de champignons endomycorhizogènes VA démontre que les effets du milieu sont tout aussi importants sur la croissance des hyphes que sur la capacité des spores à germer. Cela montre la nécessité de prendre en considération ces deux aspects dans les études sur l'influence des facteurs du milieu sur le comportement des champignons endomycorhizogènes VA. De plus l'illustration par cette étude de la variabilité qu'on peut attendre de ces champignons, souligne davantage la nécessité de bien connaître l'influence des facteurs physico-chimiques du sol sur des phases successives du cycle de ces micro-organismes pour en assurer un meilleur contrôle dans la pratique culturale.

BIBLIOGRAPHIE

- ASIMI S., GIANINAZZI-PEARSON V. and GIANINAZZI S., 1979 — Influence of increasing soil phosphorus levels on interactions between vesicular-arbuscular mycorrhizae and *Rhizobium* in soybeans. *Can. J. Bot.* 58 : 2200-2205.
- BECKER W.N. and HALL I.R., 1976 — *Gigaspora margarita*, a new species in the Endogonaceae. *Mycotaxon* 4 : 155-160.
- DANIELS B.A. and GRAHAM S.O., 1976 — Effects of nutrition and soil extracts on germi-

- nation of *Glomus mosseae* spores. *Mycologia* 68 : 108-116.
- DANIELS B.A. and TRAPPE J.M., 1979 — *Glomus epigaeus* sp. nov., a useful fungus for vesicular-arbuscular mycorrhizal research. *Can. J. Bot.* 57 : 539-542.
- DANIELS B.A. and TRAPPE J.M., 1980 — Factors affecting spore germination of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus epigaeus*. *Mycologia* 72 : 457-471.
- GERDEMANN J.W. and TRAPPE J.M., 1974 — The Endogonaceae in the Pacific Northwest. *Mycologia*, Memoir N° 5 : 76 p.
- GIANINAZZI S., GIANINAZZI-PEARSON V. et TROUVELOT A., 1982 — Les mycorrhizes, partie intégrante de la plante : biologie et perspectives d'utilisation. Les Colloques de l'INRA, 13, Paris, INRA, 397 p.
- GREEN N.E., GRAHAM S.O. and SCHENCK N.C., 1976 — The influence of pH on the germination of vesicular-arbuscular mycorrhizal spores. *Mycologia* 68 : 929-934.
- HEPPER C.M., 1983 — Effect of phosphate on germination and growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Trans. Br. mycol. Soc.* 80 : 487-490.
- KOSKE R.E., 1982 — Evidence for a volatile attractant from plant roots affecting germ tubes of a VA mycorrhizal fungus. *Trans. Br. mycol. Soc.* 79 : 305-310.
- MOSSE B., 1959 — The regular germination of resting spores and some observations on the growth requirements of an *Endogone* sp. causing vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Trans. Br. mycol. Soc.* 42 : 273-286.
- MOSSE B., 1972 — The influence of soil type and *Endogone* strain on the growth of mycorrhizal plants in phosphate deficient soils. *Rev. Ecol. Biol. Sol.* 9 : 529-537.
- MOSSE B., 1978 — Mycorrhiza and plant growth. In : *Structure and functioning of plant populations*, A.H.J. FREYSEN & J.W. WOLDENDORP, North Holland Publishing Company : 269-297.
- SANDERS F.E. and TINKER P.B., 1973 — Phosphate flow into mycorrhizal roots. *Pestic. Sci.* 4 : 385-395.
- SIQUEIRA J.A., HUBBEL D.H. and SCHENCK N.C., 1982 — Spore germination and germ tube growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *in vitro*. *Mycologia* 74 : 952-959.

AGROCYBE SETULOSA SP. NOV. EN ESPAÑA
(BOLBITIACEAE, AGARICALES)

por G. MORENO & J.M. BARRASA*

RÉSUMÉ. — Nous proposons comme espèce nouvelle *Agrocybe setulosa*, récoltée sur pâturages avec *Sphagnum* sp. (tourbières) de Canencia (Madrid). Nous comparons cette espèce avec *A. splendida* Clç. et *A. arvalis* (Fr.) Sing.

SUMMARY. — A new species is proposed, *Agrocybe setulosa*, collected on meadow-land with *Sphagnum* sp. (peat bog) from Canencia (Madrid). This species is compared with *A. splendida* Clç. and *A. arvalis* (Fr.) Sing.

RESUMEN. — Se proponen *Agrocybe setulosa*, como una especie nueva para la ciencia, recogida en pastizales con *Sphagnum* sp., (turberas) de Canencia (Madrid). Se compara con *A. splendida* Clç y *A. arvalis* (Fr.) Sing.

MOTS CLÉS : Agaricale, *Agrocybe*, Espagne, systématique.

INTRODUCCION

El genero *Agrocybe* Fayod (1889) es incluido en la familia Bolbitiaceae Singer (1948), que agrupa Agaricales con esporada ocracea y cuticula himeniforme, familia que es admitida por diferentes micologos como MOSER (1980), BON (1980) y WATLING & GREGORY (1981). Otros autores como KÜHNER (1978) no la admiten y la tratan como subfamilia o tribu dentro de la familia Strophariaceae.

Para la definicion y limites del genero seguimos a BON (1980).

MATERIAL Y METODOS

El material estudiado dos colectas procede de pastizales humedos en contacto con turberas (*Sphagnum* sp.) recogidas en la provincia de Madrid. El estudio se ha realizado en agua y rojo congo amoniacal.

* Dpto Botánica, Universidad de Alcalá de Henares, Madrid, España.

CRYPTOGAMIE, MYCOLOGIE (*Cryptog., Mycol.*) TOME 5 (1984).

Las fotografías se han efectuado en un microscopio Nikon modelo Optiphot con sistema incorporado de fotografía automatico.

El material se encuentra archivado en el herbario particular de los autores H.GM-JB, actualmente depositado en el departamento de Botánica de la Universidad de Alcalá de Henares, distribuimos isotypus y paratypus a diversos centros científicos mencionados mas adelante.

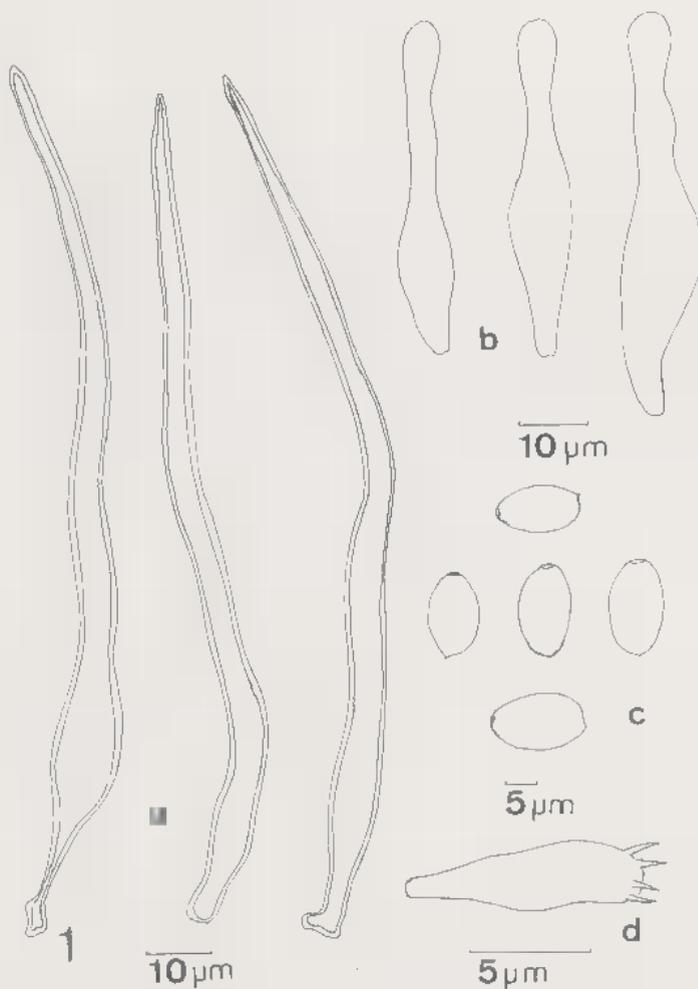


Fig. 1. — *Agrocybe setulosa* Moreno & Barrasa. a : Pileocistidios; b : Pleurocistidios; c : Esporas; d : Basidio. (Holotypus).

Fig. 1. — *Agrocybe setulosa* Moreno & Barrasa. ■ : piléocystides; b : pleurocystides; c : spores; d : basides. (Holotype).

RESULTADOS

Agrocybe setulosa Moreno & Barrasa, sp. nov.

Fig. 1, a-d; Fig. 6-17.

Species distinguitur pilis longis, subfulvis parietibusque crassis praeditis.

Pileus – cuius diameter est 0,5-1,5 cm longus – e convexo in plano convexum expansus in maturitate, in qua etiam color castaneus subruher in ochraceum temperiorem vertitur. Lamellae colore albo, cremae vel ochraceae, adnatae vel subdecurrentes. Stipes 2-4 cm altus, 0,1-0,2 cm latus, cylindraceus, pallidior colore quam pileus erat, ochraceo subfulvo, leviter incrassatus ad basim, quae praebet rhizomorphos albos frequentes. Caro concolorata. Eius odor et sapor nondum innotuerunt.

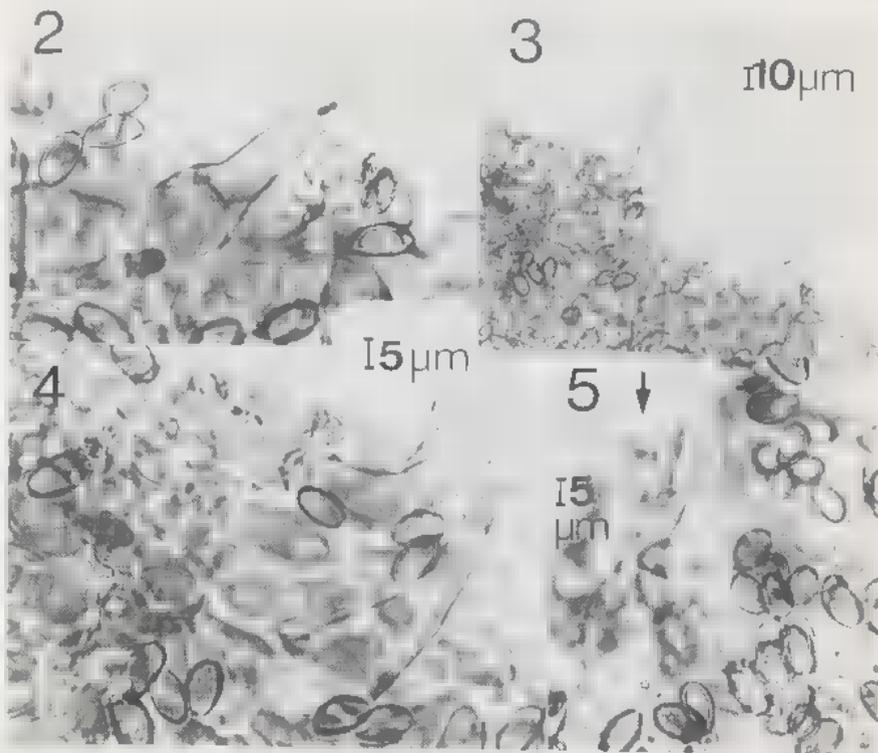


Fig. 2 a 5. – *Agrocybe arvalis* (Fr.) Sing. Pileocistidios, esporas y cistidio faciál (material enviado por el prof. Watling).

Fig. 2 à 5. – *Agrocybe arvalis* (Fr.) Sing. Pileocystides, spores et cystide faciale (matériel envoyé par le Prof. Watling).



Fig. 6 a 13. — *Agroclybe setulosa* Moreno & Barrasa. Pileocystidios (6 y 7, paratypus); Cuticula himeniforme (8 y 9, paratypus); detalle base pileocystidios (9-10, paratypus); Caulocystidios (11, 12 y 13, holotypus).

Fig. 6 à 13. — *Agroclybe setulosa* Moreno & Barrasa. Piléocystides (paratype : 6-7); cuticule hyméniforme (paratype : 8-9); détail de la base des piléocystides (paratype : 9-10); caulocystides (holotype : 11-13).

Sporae longae 13-15 μm, latae 7-8 μm, ellipticae, quarum porus germinativus, medio in apice situs, diametrum praebet 1 μm longum. Basidia tetrasporica, longa 35-40, lata 10-13 μm. Adsunt pleurocystidia frequentissima, ampullacea, apicibus subcapitatis praedita, fibulata, longa 50-80, lata 7-20 μm, quorum apex longus 6-15 μm, hyalina tenuibusque parietibus. Cheilocystidia similia. Cuticula hymeniformis, cellulis claviformibus praedita, quarum diameter est longus 8-13 μm. Cystidia pilei frequentissima singulariaque in modum pilorum longorum tenuium et angustorum, longorum 80-300, latorum 8-15 μm, flavescentium, pariete duplici 1,5-2 μm lato. Caulocystidia valde frequentia, quorum forma et magnitudo similes sunt cystidiorum pilei.

Habitat : Inter Poaceae iuxta *Sphagnum* sp. (turbarium), Canentiae (in provincia Matriti), leg. Laura Barrio, 28-IX-82, H.GM-JB 2904 Holotypus.

Sombrero de 0,5-1,5 cm de diámetro, al principio convexo para pasar en la madurez a forma plana convexa, de color marrón rojizo ■ ocráceo más claro en la madurez. Láminas de color blanco-cremoso a ocráceas, adnatas a subdecurrentes. Pie de 2-4 x 0,1-0,2 cm, cilíndrico de color más claro que el sombrero, ocráceo amarillento, débilmente ensanchado en la base en donde presenta abundantes rizomorfos blancos. Olor y sabor no estudiados.

Esporas de 13-15 x 7-8 (9) μm, elípticas con poro germinativo apical y central, de aproximadamente 1 μm de diámetro. Basidios tetraspóricos 35-40 ■ 10-13 μm. Pleurocistidios presentes muy abundantes, lageniformes con ápice subcapitado, fibulados, miden de 50-80 x 7-20 μm, ápice de 10-15 μm, hialinos y de paredes finas. Cheilocistidios semejantes. Cuticula himeniforme con celulas claviformes de 8-13 μm de diámetro. Pileocistidios muy abundantes y característicos, en forma de largos pelos delgados y estrechos, de 80-300 x 8-15 μm, amarillentos, de doble pared x 1,5-2 μm. Caulocistidios muy abundantes y semejantes en forma y tamaño a los pileocistidios.

Hábitat : Entre Poaceae cerca de *Sphagnum* sp. (turbera), Canencia (Madrid) 30TVL32, leg. Laura Barrio, 28-IX-82, H.GM-JB 2904 Holotypus.

Sobre hierba, en pastizales altitudinales con *Sphagnum* sp., 1970 m. Laguna de Peñalara (Madrid), 30TVL1921, leg. J.M. Barrasa, 9-X-82, H.GM-JB 2905 Paratypus. Isotypus en herbario Watling (Edinburgh) e Isoparatypus herbario Bon (Saint-Valery-sur-Somme).

Observaciones : Especie caracterizada por sus pileo y caulocistidios (Fig. 6-7, 9-13) de forma diferente a los pleuro y cheilocistidios (Fig. 14-16) es próximo a *Agrocybe arvalis* (Fr.) Sing., del que se diferencia por presentar éste último pleurocistidios con el ápice dividido ■ modo de dedos de un guante 'digitiformes' así como en su tamaño esporal, 9-10 x 5-6 μm (MOSER, 1980). (Fig. 2-5).

Recientemente ha sido descrita una especie con pleurocistidios y esporas muy semejantes a la nuestra en tamaño y morfología, *A. splendida* Clg., de la que se diferencia claramente por presentar sus pileo y caulocistidios isomorfos con los pleuro y cheilocistidios que son de paredes finas, lageniformes con ápice subcapitado (CLÉMENÇON, 1977).

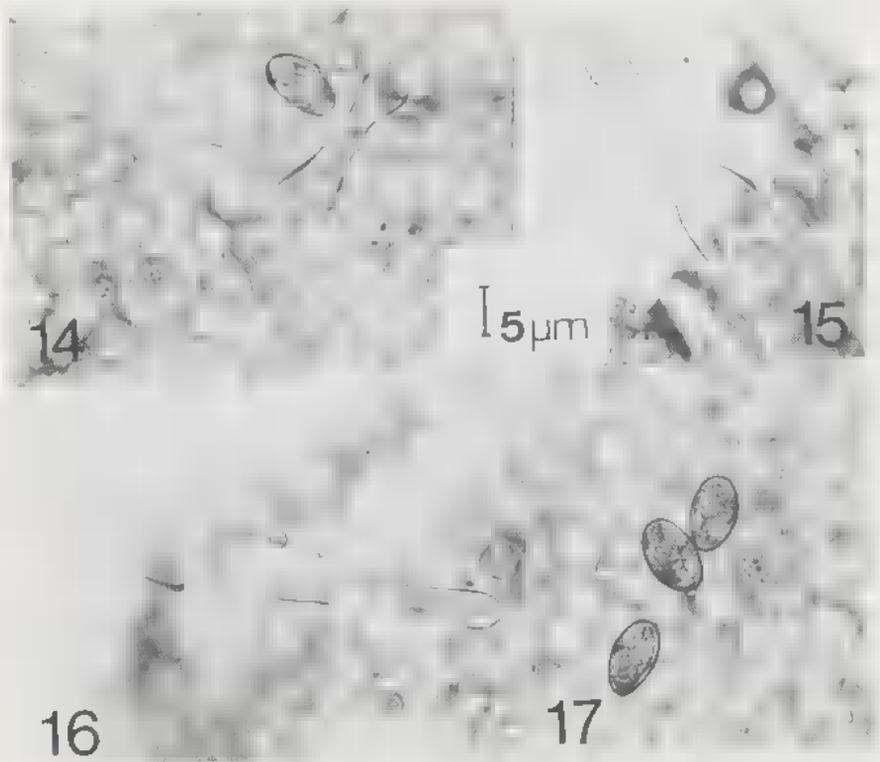


Fig. 14 ■ 17. — *Agrocybe setulosa* Moreno & Barrasa. Pleurocistidios (14, holotypus); Cheilocistidios (15 y 16, holotypus); Esporas (17, holotypus).
 Fig. 14 à 17. — *Agrocybe setulosa* Moreno & Barrasa. Pleurocystides (holotype : 14); cheilocystides (holotype : 15-16); Spores (holotype : 17).

A. pediades (Pers. ex Fr.) Fay., *A. arenicola* (Berk.) Sing., *A. semiorbicularis* (Bull. ex Fr.) Fay., *A. arenaria* (Peck) Sing., carecen de pleurocistidios, razón por la que se diferencia del nuevo taxon propuesto.

Podemos diferenciar las especies con pleurocistidios descritas en Europa de la Sección pediadeae (Fr.) Sing. por la siguiente clave.

1. Sin pleurocistidios grex *A. pediades*
- 1'. Con pleurocistidios 2
2. Esporas 5-6 µm, pleurocistidios digitiformes *A. arvalis*
- 2'. Esporas 7-10 µm, pleurocistidios lageniformes, ápice sin dividir 3
3. Cistidios heteromorfos. pleuro y cheilocistidios hialinos de paredes finas distintos de los pileo y caulocistidios de paredes gruesas y amarillentas. Esporas de 7-8 µm *A. setulosa*
- 3'. Cistidios isomorfos. pleuro, cheilo, pileo y caulocistidios de paredes finas e hialinas. Esporas de 8-10 µm *A. splendida*

AGRADECIMIENTOS

Nuestro más sincero agradecimiento a los profesores BON y WATLING por sus comentarios científicos, así como por el envío de exsiccatas del género *Agrocybe*, principalmente *A. arvalis*. Al profesor ROMAGNESI por el envío de *A. arvalis*. Al profesor S. MARINER-BIGORRA por la realización de la descripción latina. Al profesor CALONGE por poner a nuestra disposición la bibliografía del Real Jardín Botánico de Madrid.

BIBLIOGRAFIA

- BON M., 1980 - Révision du genre *Agrocybe* Fayod. *B. Fed. Dauph. Sav.* 76 : 32-36.
- CLÉMENÇON H., 1977 - *Agrocybe splendida* nov. spec. *Nova Hedwigia* 28 : 8-10.
- FAYOD V., 1889 - Prodrôme d'une histoire naturelle des Agaricinées. *Ann. Sci. Nat. (Bot.)* VII, 9 : 181-411.
- KÜHNER R., 1978 - Les grandes lignes de la classification des Agaricales, Pluteales, Tricholomatales. Remarques et précisions sur quelques genres de Strophariaceae ayant une sporée du type Pratelli ou de type Dermini. Leur regroupement en tribus. *Bull. Mens. Soc. Linn. Lyon* 47 : 530-573.
- MOSER M., 1980 - Guida alla determinazione dei funghi (Polyporales, Boletales, Agaricales, Russulales). *Arti Grafiche Saturnia*. 565 p.
- SINGER R., 1948 - New and interesting species of Basidiomycetes. II. *Pap. Mich. Acad. Sc., Arts Lett.*, 32 : 103-150.
- WATLING R. & GREGORY N.M., 1981 - Census catalogue of world members of the Bolbitiaceae. *Bibliotheca mycologica* 82. Vaduz, J. Cramer. 224 p.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA FLORE FONGIQUE MICROSCOPIQUE DU MAROC

1. — Le genre *Gonatobotrys* : quelques aspects morphologiques et physiologiques

par L. NAJIM, J.P. CLAUZET et M. KADIRI*

RÉSUMÉ. — Deux espèces de *Gonatobotrys*, le *G. simplex* et le *G. africana* sp. nov. ont été isolées pour la première fois au Maroc; dans la région d'Oulmes au Moyen Atlas, à 800 m d'altitude. Ces deux espèces ■ distinguent d'une part, entre elles, par leurs caractères morphologiques mais présentent toutefois quelques similitudes sur le plan physiologique; d'autre part, elles possèdent quelques particularités qui les différencient des espèces déjà décrites, en particulier pour le *G. africana*. Ces deux espèces ■ développent fréquemment en mycoparasites, dans nos régions, sur l'*Alternaria alternata*. Des tentatives de culture pure en l'absence de l'hôte (isolement monospore) et l'étude de leur ultrastructure ont permis d'apporter quelques précisions sur la systématique de ces espèces qualifiées de parasites biotropiques obligatoires.

SUMMARY. — Two species of *Gonatobotrys*, *G. simplex* and *G. africana* sp. nov., have been isolated for the first time in Morocco, in the Middle Atlas region at Oulmes, at 800 m of altitude. On one hand, these two species will be distinguished, one from the other, by their morphological characters, however, they present some physiological similarities; on the other hand, they have some particularities that differentiate them from already described species, particularly for *G. africana*. These two species develop frequently ■ mycoparasites, in our region on *Alternaria alternata*. Tentatives in pure cultures in absence of the host (monospore isolation) and study of their ultrastructure permit to carry some precisions on the systematic of these species qualified as obligatory biotrophic parasites.

MOTS CLÉS : *Gonatobotrys*, morphologie, physiologie, systématique.

INTRODUCTION

Le genre *Gonatobotrys* dont la systématique a été révisée récemment par divers auteurs (ALI, 1975; WALKER & MINTER, 1981), comprend deux espèces : *Gonatobotrys simplex* et *G. complex*. Le *Gonatobotrys complex* ■ été

* Laboratoire de Mycologie, Faculté des Sciences, av. Ibn Batouta, B.P. 1014, Rabat (Maroc).
CRYPTOGAMIE, MYCOLOGIE (*Cryptog., Mycol.*) TOME 5 (1984).

décrit pour la première fois par WALKER & MINTER (1981). WHALEY & BARNETT (1963) ont montré que le *G. simplex* est un parasite biotrope de contact. Par ailleurs, HOCH (1977), dans une étude ultrastructurale concernant les relations entre ce champignon et l'un de ses hôtes, l'*Alternaria tenuis*, a montré l'existence de plasmodesmes au niveau de la zone de contact.

C'est en faisant un relevé systématique des espèces fongiques microscopiques, dans les vergers de Rosacées, dans la région d'Oulmès (Moyen-Atlas) que nous avons pu observer pour la première fois le genre *Gonatobotrys* au Maroc. Ces champignons ont été isolés en même temps que leur hôte : *Alternaria alternata*. Les précédents travaux de recensement de la flore fongique aérienne au Maroc n'ont pas fait mention de ce champignon car ils se limitaient essentiellement à la région de Rabat (CHABERT, 1968; CHABERT & NICOT, 1968) dont l'environnement est très différent de celui de la région d'Oulmès. Deux espèces de *Gonatobotrys*, le *G. simplex* et *G. africana* sp. nov., sont très fréquentes dans cette région du Maroc et leur hôte préférentiel est l'*Alternaria alternata*.

Des cultures pures de *Gonatobotrys* sur lame ou sur de la cellophane ont permis de distinguer les deux espèces de *G. simplex* et *G. africana* et d'apprécier certaines de leurs affinités physiologiques avec les différentes souches d'*Alternaria alternata*. Dans le présent travail, nous montrons l'existence des deux espèces de *Gonatobotrys*, leurs particularités physiologiques et morphologiques et les différentes variations qui se présentent.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Origine de la souche :

Les échantillons de *Gonatobotrys* sp. que nous avons observés, proviennent de la région d'Oulmès au Moyen-Atlas (150 km à l'Est de Rabat; 800 m d'altitude) où ils ont été récoltés en compagnie de leur hôte (de mars à juin 1981), soit directement sur les pommes en voie de pourrissement, soit par capture des spores sur des boîtes de Pétri contenant un milieu de culture pauvre : extrait de malt : 10 g/l; agar : 20 g/l et ouvertes dans les vergers de la région à 0,80 m du sol, pendant 24 h.

Culture pure et stockage des souches :

Un extrait cellulaire a été obtenu à partir de culture de mycélium d'*Alternaria alternata* en milieu liquide (extrait de malt à 2 %), maintenue en agitation. Au bout d'une dizaine de jours, le mycélium est recueilli, lavé, et déshydraté à l'étuve à 80°C. Le résidu sec est ensuite broyé dans un mortier en présence de tampon phosphate 0,15 M pH 6,8 à raison de 10 ml par mg de poids sec. Cette suspension est alors filtrée et stérilisée à l'autoclave. L'extrait ainsi obtenu est étalé à la surface du milieu de culture au moment de l'ensemencement à raison de 1 ml par boîte de Pétri.

Nous avons utilisé deux types de milieu de culture : un milieu constitué

d'extrait de malt (20 g/l), et d'agar (20 g/l) et un milieu comparatif mis au point par WHALEY & BARNETT (1963) : glucose (5 g/l), extrait de levure (5 g/l), et agar (20 g/l).

En ce qui concerne le stockage des deux espèces de *Gonatobotrys* nous avons procédé de deux manières différentes : la première est de les maintenir sur leur hôte vivant à une température de 3°C et de faire des repiquages tous les deux mois. La deuxième méthode est très délicate et présente toutefois, quelques risques, elle consiste à maintenir les deux souches en culture pure sur un milieu additionné d'extrait cellulaire de l'hôte. Cette dernière méthode permet d'obtenir un temps de stockage assez long, allant jusqu'à cinq mois.

Les cultures sont auparavant incubées pendant deux à trois jours à la température ambiante (23 ± 1°C) avant d'être transférées dans l'enceinte réfrigérée (3°C) pour la conservation.

Des cultures de ces différentes espèces ont été envoyées au Centraalbureau voor Schimmelcultures Baarn, pour être conservées et cataloguées.

Microscopie électronique à balayage :

De petits carrés de gélose supportant la culture ont été fixés au permanganate à 1 % dans un tampon à pH 6.8. Plusieurs lavages à l'eau distillée ont précédé une déshydratation progressive à l'acétone (25 %, 50 %, 75 %, 95 % et 100 %). Après avoir été séché par la méthode du point critique, le mycélium est déposé sur des supports en aluminium et métallisé avec une fine couche d'or.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

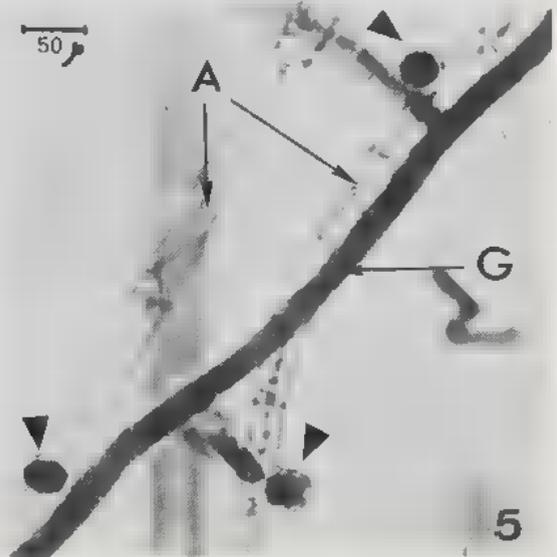
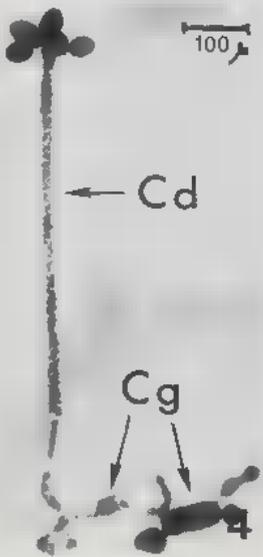
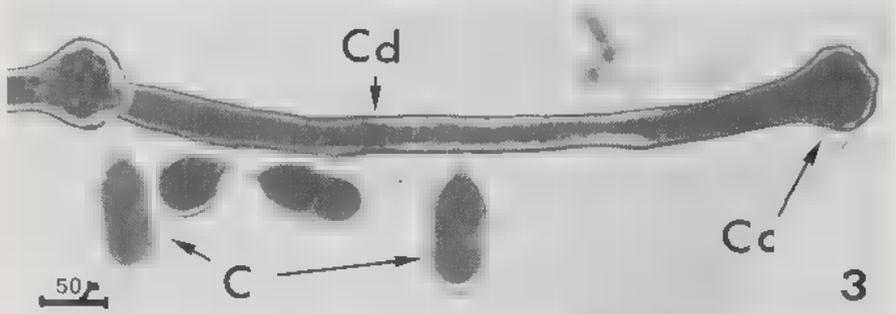
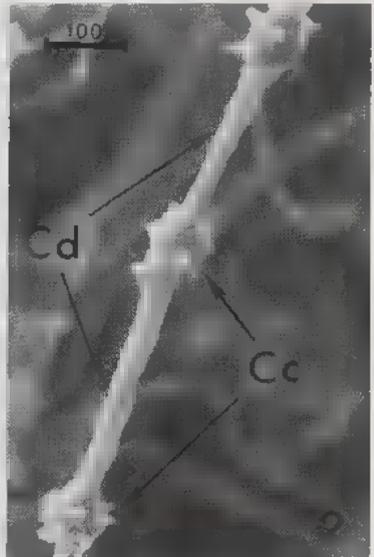
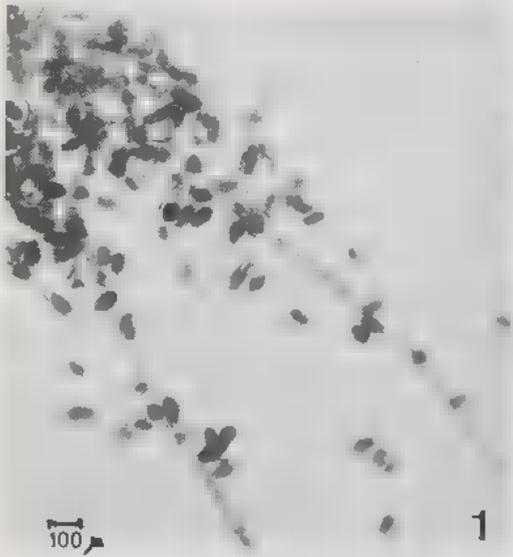
I - Aspects morphologiques

Le genre *Gonatobotrys* se caractérise par des colonies de couleur blanchâtre et devenant parfois orange en vieillissant. Le mycélium est formé de filaments rampant sur lesquels se différencient des conidiophores dressés, portant à intervalles plus ou moins réguliers des cellules conidiogènes; les conidies sont hyalines, non reliées en chaîne (Pl. I, fig. 2 et 3; Pl. III, fig. 2 et 3).

WALKER & MINTER (1981) ont décrit deux espèces de *Gonatobotrys*, le *G. simplex* et le *G. complex*, qu'ils distinguent par le nombre de cellules par conidie. En effet, le *G. simplex* présente des conidies unicellulaires (Pl. I, fig. 1 et 3) alors que le *G. complex* présente des conidies bicellulaires.

Nous avons constaté que l'une de nos souches est plus proche morphologiquement du *G. complex* décrit par WALKER & MINTER (1981), mais en diffère par un ensemble de caractères qui font d'elle une nouvelle espèce : *Gonatobotrys africana* sp. nov. (Pl. IV).

— Les conidiophores du *G. africana* isolé au Maroc sont beaucoup plus ramifiés que ceux du *G. simplex* et les ramifications se forment souvent au niveau des cellules conidiogènes (Pl. III, fig. 4; Pl. IV).



— Les cellules conidiogènes du *G. africana* isolé au Maroc ont une forme beaucoup moins régulière, moins sphérique que celles du *G. simplex*, mais aussi que celles de l'holotype de *G. complex* décrit par WALKER & MINTER (1981) (Pl. I, fig. 2; Pl. III, fig. 2 et 3).

— Chez le *G. africana*, nous n'avons pas observé d'hétérogénéité conidienne et en particulier ces longues conidies de 30 à 40 microns, décrites par WALKER & MINTER (1981), représentant 25 % des conidies d'après ces auteurs (communication personnelle).

— Enfin, signalons la présence, avec une fréquence relativement faible toutefois, de conidies bicellulaires produites par le *G. simplex*; par contre, la présence de conidies unicellulaires (10 %) produite par *G. africana* isolé au Maroc semble être liée à l'ontogénie conidienne.

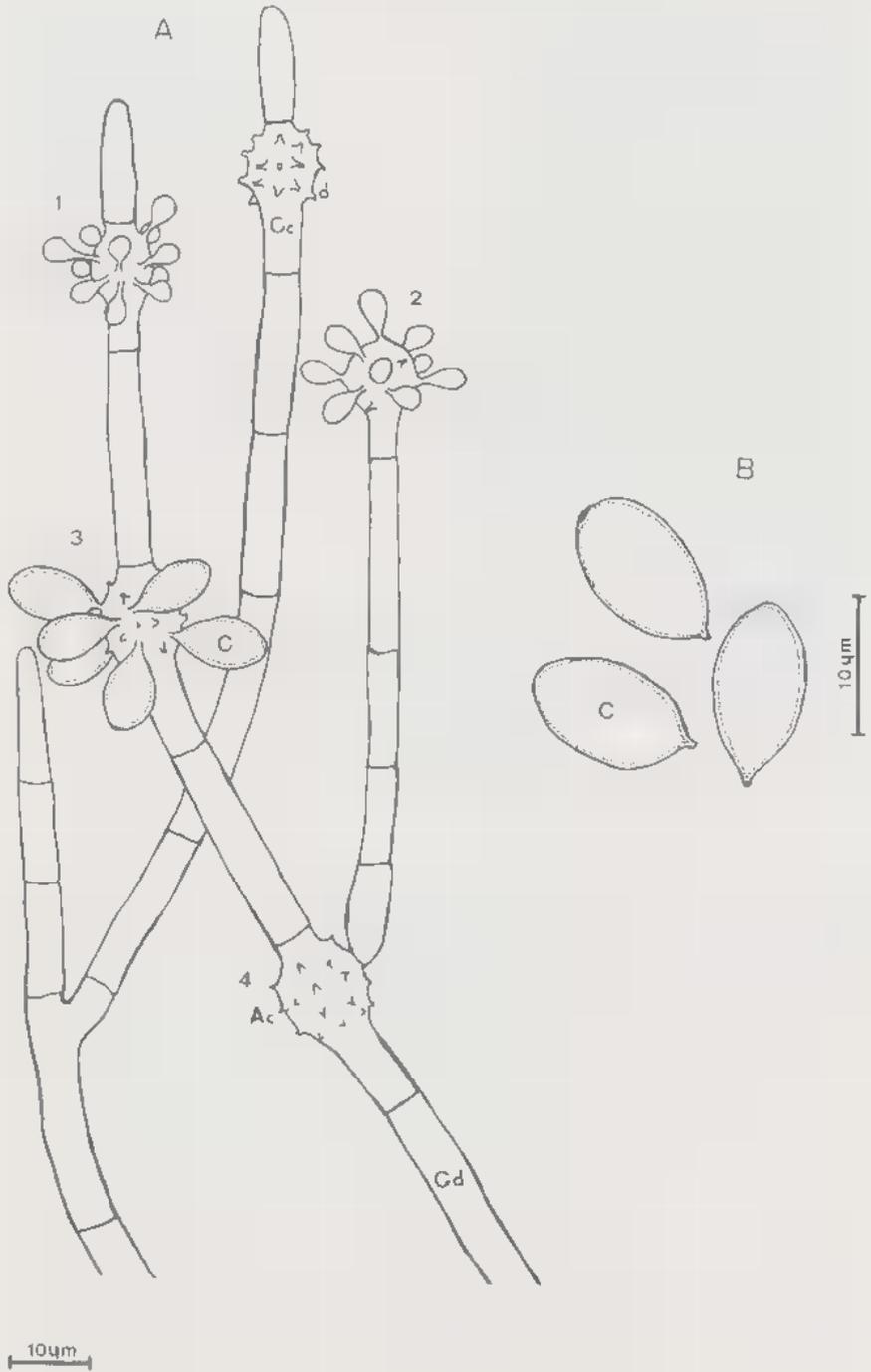
En conclusion, s'il ne semble faire aucun doute que le *G. simplex* isolé au Maroc correspond à l'holotype *G. simplex* Cda var. *levellei* Sacc. (WALKER & MINTER, 1981), il n'en est pas de même pour le *G. africana*; en effet, le type de ramifications, la forme des cellules conidiogènes, l'homogénéité morphologique des conidies, nous font penser que la souche isolée au Maroc correspond à une espèce différente de celle de l'holotype *G. complex* Jane WALKER & MINTER.

Gonatobotrys africana Larbi NAJIM, Jean-Paul CLAUZET et Mohamed KADIRI
sp. nov. (Pl. IV)

Espèce récoltée à Oulmès, Moyen-Atlas en présence d'*Alternaria alternata*, dans des vergers de Rosacées. Des cultures, en présence de l'hôte ont été envoyées au Centraalbureau Voor Schimmelcultures à Baarn, pour y être cataloguées et conservées.

Planche I : *Gonatobotrys simplex*. — Fig. 1 : Microscopie photonique; aspect général du thalle. Fig. 2 : M.E.B., conidiophores (Cd), les cellules conidiogènes (Cc) sont hérissées de minuscules denticules provenant de la chute des conidies. Fig. 3 : Cellules conidiogènes (Cc) se différenciant au sommet du conidiophore (Cd), et devenant intercalaire par suite de la croissance apicale du conidiophore, tout en continuant à produire des conidies (C). Fig. 4 : Germination de conidies de *G. simplex* (Cg) en l'absence de l'hôte et de l'extrait cellulaire, montrant une conidie initiant un microcycle et une autre conidie ne produisant que des « bourgeons » lui donnant un aspect « lévuriforme ». Fig. 5 : Relations entre *G. simplex* (G) et l'un de ces hôtes, *Alternaria alternata* (A), *G. simplex* émet de très courtes ramifications terminées par des cellules de contact (flèches) caractérisant ce mode de parasitisme.

Plate 1 : *Gonatobotrys simplex*. — Fig. 1 : general aspect of thallus. Fig. 2 : SEM, conidiophores (Cd), denticulate conidiogenous cells (Cc). Fig. 3 : Conidiogenous cells (Cc) at top of conidiophore (Cd), intercalated by apical growth of conidiophore, and always producing conidia (C). Fig. 4 : Germinating conidia (Cg) in absence of the host or of the cellular extract : one conidium is initiating a microcycle, and another one is only producing buds. Fig. 5 : Relationships between *G. simplex* (G) and one of its hosts, *Alternaria alternata* (A). Arrows : contact cells produced by *G. simplex*.



Les colonies sont blanches, ou parfois légèrement orange dans les parties âgées. Le mycélium est large et hyalin, de 3 à 5 μm de diamètre, septé et relativement très ramifié. Les conidiophores ont 5 à 7 μm de diamètre et 1000 à 2000 μm de hauteur, ils sont dressés et très ramifiés comparés au *G. complex* décrit par WALKER & MINTER (1981). Les ramifications sont rares au niveau des ampoules conidiogènes dont le diamètre est de 7 à 12 μm , et qui sont espacées plus ou moins régulièrement sur le conidiophore.

Les conidies sont dans leur grande majorité bicellulaires (90 %), mais on trouve aussi des conidies unicellulaires (10 %) de taille légèrement plus réduite que les premières. Dans les conidies bicellulaires, la taille de la cellule apicale (extrême) est toujours de taille réduite ou au plus égale à celle de la cellule basale (ou proximale). La taille des cellules conidiennes est le caractère essentiel qui permet de distinguer le *G. africana* du *G. complex*, où la cellule basale (proximale) de la conidie est la plus réduite par rapport à la cellule apicale. Les conidies (5 x 14 μm) du *G. africana* sont régulièrement disposées sur l'ampoule conidiogène et insérées sur celle-ci par de longs denticules (3 à 5 μm), qui sont d'autant plus longs que les conidies qu'ils portent sont aux premiers stades de développement.

Le *G. africana* se distingue aussi de l'*Arthrobotrys* car les conidies sont au maximum bicellulaires, et ne présentent jamais de trappes; par contre, il développe des cellules de contact en présence de l'*Alternaria alternata*.

Gonatobotrys africana Larbi NAJIM, Jean-Paul CLAUZET et Mohamed KADIRI
sp. nov. (Pl. IV).

Species in Oulmès, Medio in Atlante, in Alternariis alternatis in quibusdam Rosacearum Pomariis inventa.

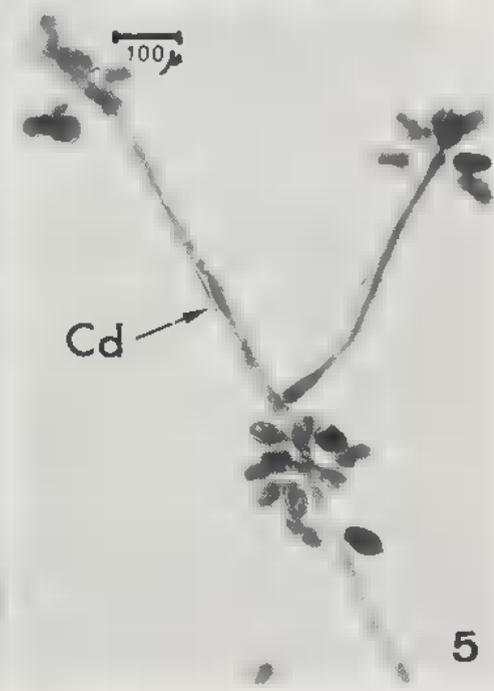
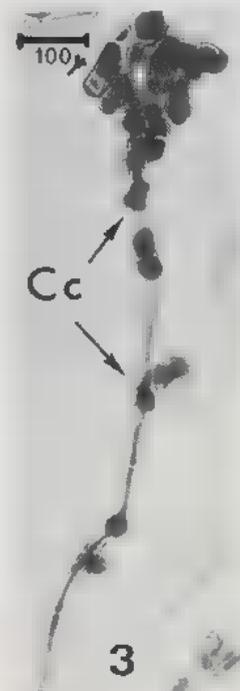
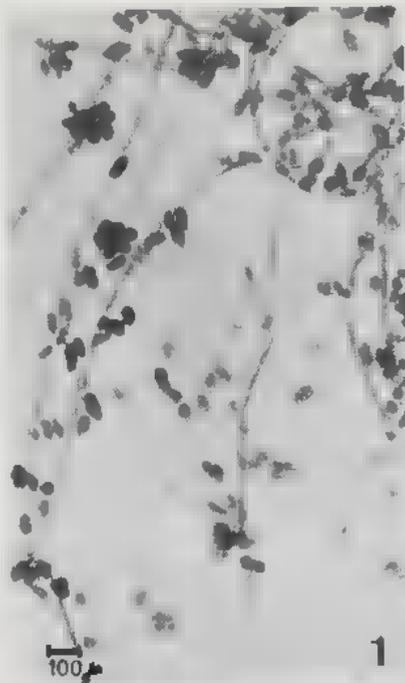
Coloniae ejus albae, aliquando autem in provectoribus aetate partibus subflammeae. Mycelium latum perlucidumque, in diametro 3 ad 5 μm , septatum et, si dici potest, maxime ramosum.

*Conidiophori in diametro 5 ad 7 μm , in altitudine autem 1000 ad 2000 μm , erecti maximeque ramosi si cum *G. complici*, A. WALKER & MINTER descripta (1981), comparatur.*

Rami pauci in partibus ampullas conidiogenas ferentibus. Hae ampullae, in diametro 7 ad 12 μm , in conidiophoris magis vel minus paribus intervallis incorporatae sunt.

Planche II : *G. simplex*. — A : Aspect des conidiophores. 1, 2 et 3 : différents stades de développement des conidies. 4 : Ampoule conidiogène après la chute des conidies. Ac : ampoule conidiogène. Cd : conidiophore. Cc : cellule conidiogène. C : conidie. d : denticule. B : détail de quelques conidies.

Plate II : *G. simplex*. — A : Conidiophores. 1, 2 et 3 : different stages in development of conidia. 4 : conidiogenous bulbs. B : Some conidia.



Pleraeque conidiae bicellulariae aliquae unicellulariae, hae leviter parviores quam illae. In bicellulariis conidiis, cellula in apice posita plerumque minor quam altera in basi posita : aliquando autem magnitudine aequa, nunquam major. Cellularum conidiarum amplitudo propria distinctio est qua G. africana a G. complici differt, cujus conidiae cellula in basi posita minor quam altera in apice.

G. africanae conidiae paribus intervallis in ampulla conidiogena longis denticulis inseratae : hi autem denticuli eo longiores, quo conidiae minus evolutae sunt.

Differt etiam ab Arthrobotrys, G. africana quod ejus conidiae ut maxime bicellulariae sunt, et nunquam foveas ferunt. Cellulae autem ad contactum ei crescunt, si adsunt Alternariae alternatae.

Clef pour les espèces du genre *Gonatobotrys*

- | | | |
|---|---|------------------------------|
| 1 | Conidie unicellulaire | <i>Gonatobotrys simplex</i> |
| 1 | Cellules conidiennes dissymétriques ou au plus égales | 2 |
| 2 | Cellule proximale réduite | <i>Gonatobotrys complex</i> |
| 2 | Cellule proximale développée | <i>Gonatobotrys africana</i> |

II - Aspects physiologiques

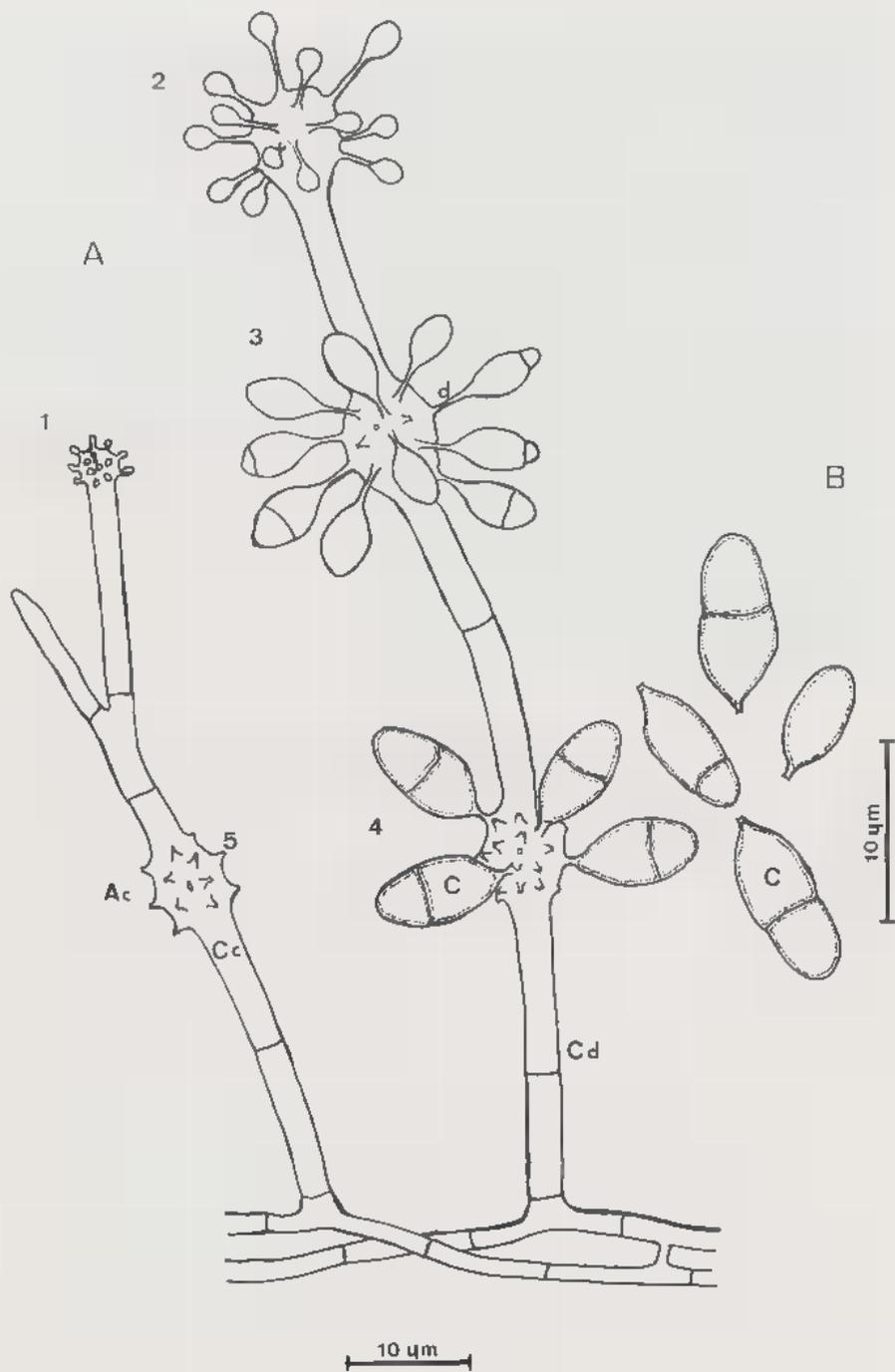
Les souches de *G. simplex* que nous avons observées ont été récoltées en compagnie d'*Alternaria alternata* et de *Cladosporium herbarum* comme cela a été déjà décrit par WHALEY & BARNETT (1963) et WALKER & MINTER (1981), mais aussi en présence du *Stemphylium* et sa forme parfaite, le *Pleospora herbarum*. Par contre nous n'avons pas observé, durant nos recherches, l'association *Gonatobotrys* - *Paecilomyces* (WHALEY & BARNETT, 1963; WALKER & MINTER, 1981).

Au Maroc l'*Alternaria alternata* et le *Cladosporium herbarum* sont les espèces les plus fréquemment parasitées.

Le *G. africana* que nous avons observé parasite les mêmes espèces que le *G. simplex* et selon le même processus : le parasite émet, en direction de l'hôte, de courts filaments terminés par une cellule de contact (WHALEY & BARNETT, 1963) (Pl. I, fig. 5). C'est au niveau de l'interface entre les cellules de contact du parasite et les cellules de l'hôte que HOCH (1977) a montré l'existence de plasmodesmes.

Planche III : *Gonatobotrys africana*. — Fig. 1 : Microscopie photonique; aspect général du thalle. Fig. 2 : M.E.B., cellules conidiogènes (Cc) dont la surface est hérissée de denticules formées à la chute des conidies (C). Fig. 3, 4 et 5 : Cellules conidiogènes (Cc) de forme irrégulière et réparties à intervalles réguliers sur le conidiophore (Cd), d'où partent parfois des ramifications (fig. 4).

Plate III : *Gonatobotrys africana*. — Fig. 1 : General aspect of the thallus. Fig. 2 : SEM, denticulate conidiogenous cells. Fig. 3, 4 and 5 : Irregular conidiogenous cells regularly distributed on the conidiophore, with some ramifications (fig. 4).



WHALEY & BARNETT (1963) ont montré que le *G. simplex* ne peut se développer en l'absence d'une substance, qu'ils ont appelé facteur de croissance ou «mycotrophéine», que le parasite trouve naturellement dans les cellules de l'hôte. Ces auteurs ont montré, dans le même rapport, que ce facteur de croissance est produit, plus ou moins intensément, par beaucoup d'espèces fongiques, en particulier une espèce qui n'est pas parasitée par *G. simplex* : *Arthrobotrys musiformis*. C'est cette espèce qu'ils ont utilisée pour réaliser un extrait cellulaire, contenant le facteur de croissance, qu'il est nécessaire d'ajouter au milieu de culture afin d'obtenir *G. simplex*.

A la différence de WHALEY & BARNETT (1963), nous avons pu obtenir le développement de certaines conidies de *G. simplex* et *G. africana* en l'absence de facteur de croissance, mais seulement dans le cas où les conidies repiquées, du *G. simplex* ou du *G. africana*, proviennent de culture effectuée en présence de l'hôte ou de l'extrait cellulaire de l'hôte. On observe alors que certaines de ces conidies produisent un filament formé de 4 à 5 cellules et terminé par une cellule conidiogène, réalisant ainsi un microcycle (Pl. I, fig. 4). Si on repique les conidies ainsi formées, celles-ci ne se développent qu'en présence de l'hôte ou de l'extrait cellulaire de l'hôte. Il semble donc, que lorsque le *Gonatobotrys* sp. est cultivé en présence de facteur de croissance (provenant de l'hôte ou d'un extrait cellulaire), certaines conidies formées emmagasinent une quantité minimale de cette substance, leur permettant d'assurer une fois repiquées, un développement végétatif réduit mais toutefois conidiogène de type microcycle (Pl. I, fig. 4). D'autres conidies, par contre, parviennent seulement à émettre quelques bourgeons leur donnant un aspect lévuriforme (Pl. I, fig. 4); ces conidies n'ont vraisemblablement pas accumulé suffisamment de substance de croissance durant leur formation.

Le développement du *G. simplex* ou de *G. africana* en présence d'extrait d'*Alternaria* sp. est très comparable au développement de ces espèces en présence de leur hôte naturel. Toutefois, nous avons pu constater que ce développement devient d'autant moins important (tant sur le plan de la croissance végétative que sur le plan de la sporulation) que le nombre de repiquage sur le milieu additionné d'extrait augmente. Il semble donc que le contact avec l'hôte favorise la capacité de développement du parasite.

Enfin, nous avons pu constater qu'un milieu «riche» (extrait de levure, glucose, agar) favorise plutôt la croissance végétative, alors qu'un milieu plus «pauvre» (extrait de malt, agar) favorise la sporulation.

Planche IV : *G. africana*. — A : Aspect des conidiophores. 1, 2, 3 et 4 : différents stades de développement des conidies. 5 : Ampoule conidiogène après la chute des conidies. Ac : ampoule conidiogène. Cc : Cellule conidiogène. Cd : Conidiophores. C : Conidies. d : denticule. B : Détail de quelques conidies.

Plate IV : *G. africana*. — A : Conidiophores. 1, 2, 3 and 4 : different stages in development of conidia. 5 : Conidiogenous bulbs. B : Some conidia.

REMERCIEMENTS

Nous remercions la FIS (Fondation Internationale pour la Science) pour le soutien financier qu'elle apporte à ce projet. Nos remerciements vont aussi à M. AMBLARD de GUERRY, pour la partie latine de ce texte.

Nous remercions également MM. M. BEN CHERKI et S. KHAMOUSS pour leur assistance technique.

BIBLIOGRAPHIE

- ALI M.I., 1975 — The family Moniliaceae in Egypt. 1. *Gonatobotrys simplex* Corda. *Publ. Cairo Univ. Herb.* 6 : 1-6.
- CHABERT J., 1968 — Les spores de champignons dans l'air de Rabat (Maroc) : Aperçu floristique et écologique. Applications allergologiques et pathologiques possibles. *Bull. Soc. Sci. Nat. Phys. Maroc* 48 : 1-48.
- CHABERT J. et NICOT J., 1968 — Notes d'Aérobiologie. II. Micromycètes de l'air de Rabat; contribution à l'établissement d'un catalogue mycologique du Maroc. *Bull. Soc. Mycol. France* 84 : 475-483.
- HOCH H.C., 1977 — Mycoparasitic relationships : *Gonatobotrys simplex* parasit on *Alternaria tenuis*. *Phytopathology* 67 : 309-314.
- WALKER J.C. and MINTER D.W., 1981 — Taxonomy of *Nematogonum*, *Gonatobotrys*, *Gonatobotrym* and *Gonatobotriella*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 77 : 299-319.
- WHALEY J.W. and BARNETT H.L., 1963 — Parasitism and nutrition of *Gonatobotrys simplex*. *Mycologia* 55 : 199-210.

MODIFICATIONS STRUCTURALES DE LA PAROI LIÉES A L'ENVIRONNEMENT

par Marie-France ROQUEBERT* et David MINTER**

RÉSUMÉ. – L'ultrastructure de la paroi des hyphes végétatives de quelques champignons est étudiée sous diverses conditions de développement : en milieu aérien, à la surface ou dans le milieu gélosé et en milieu liquide. Dans ces deux dernières situations, les strates externes peuvent être dissociées et même disparaître. Des modifications analogues sont mises en évidence entre les cellules constitutives des enveloppes de quelques ascomes et conidiomes. Les incidences de cette propriété sur la morphogénèse sont discutées.

SUMMARY. The wall ultrastructure of vegetative hyphae of various fungi was studied. The hyphae had developed aerially, on or in agar, and in liquid culture. In the last two cases external wall layers became dispersed or even disappeared. Similar changes to layers are demonstrated for component cells of ascomatal and conidiomatal walls, and the relevance of these features interpreting morphogenesis is discussed.

MOTS CLEFS : Paroi, ultrastructure.

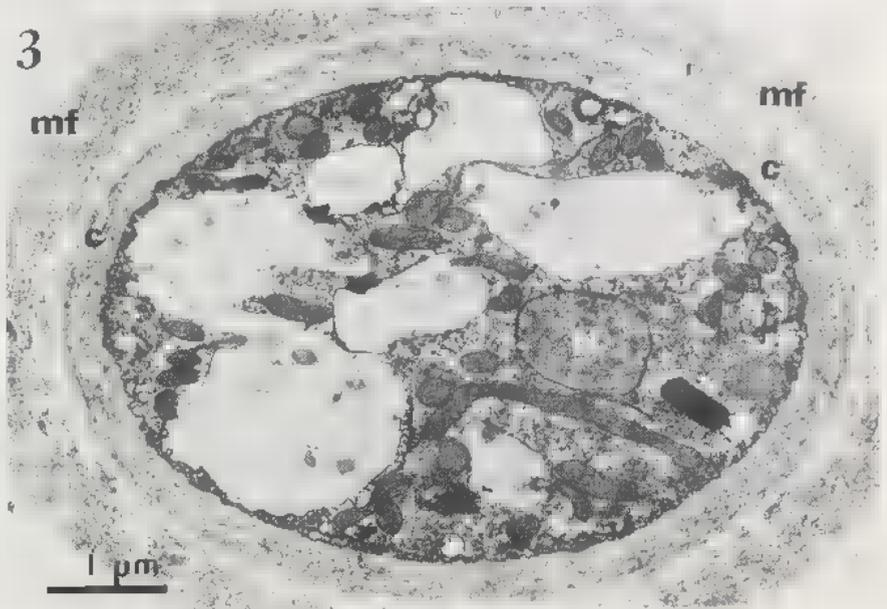
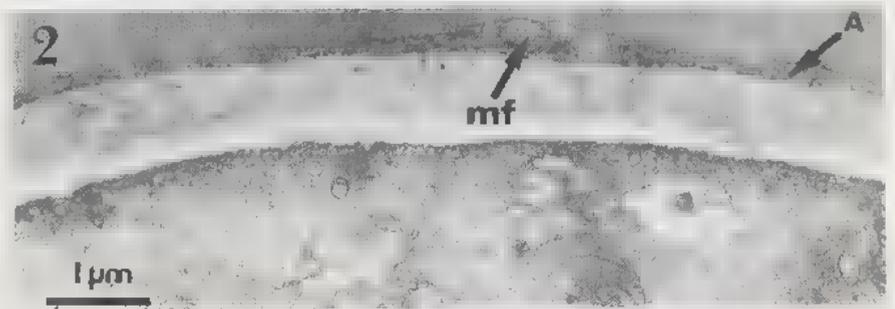
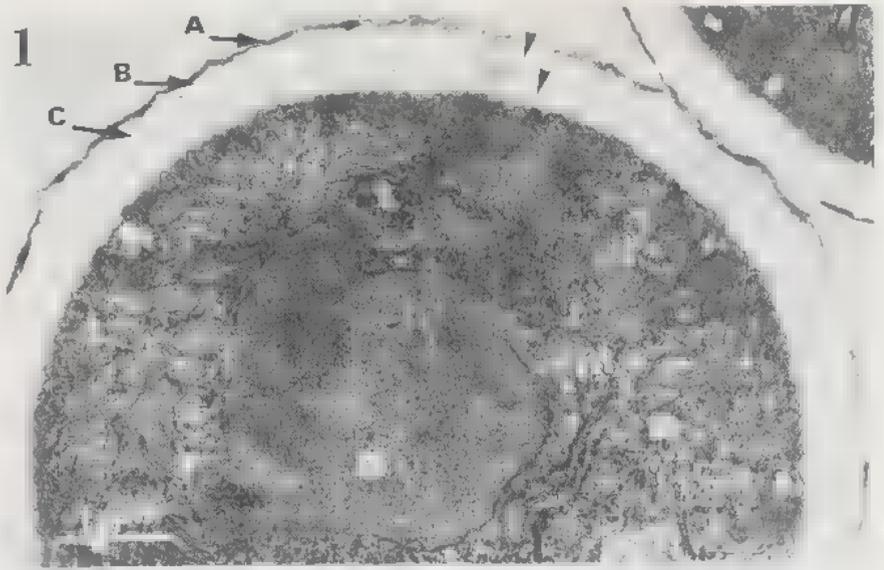
La paroi des champignons est une structure qui sépare la cellule de l'extérieur et aide au maintien de la morphologie. Elle limite l'effet des variations physiques ou chimiques du milieu ambiant sur le contenu cellulaire et c'est par son intermédiaire que s'effectue l'absorption des éléments nutritifs contenus dans le milieu.

La faculté d'adaptation que ce rôle protecteur suggère conduit à penser que la structure pariétale est susceptible d'être modifiée en réponse à des changements externes.

Chez les champignons conidiens, la morphogénèse et le bourgeonnement en particulier, impliquent la participation de la paroi (ROQUEBERT, 1981). Une modification structurale de celle-ci peut donc avoir une incidence sur le déroulement des processus morphogénétiques.

* Laboratoire de Cryptogamie, M.N.H.N., 12 rue Buffon, 75005 Paris. L.A. 257 - CNRS.

** C.M.I., Kew, Surrey TW9 3 AF, Grande Bretagne.



Dans la nature, le développement des champignons débute en milieu à très forte teneur en eau. Le passage à la forme reproductrice s'effectue généralement chez les champignons filamenteux en conditions aériennes. La constatation de cette nécessité biologique nous a conduit à étudier et à comparer les structures pariétales des éléments végétatifs de quelques Hyphomycètes observés en milieu aérien et en milieu à forte teneur en eau libre, tels qu'un milieu gélosé et un milieu liquide. D'autre part, les fructifications closes, ascomes ou conidiomes, sont constituées de cellules étroitement juxtaposées dont les parois contiguës tendent à s'unir en une sorte de tissu dont la cohésion est assurée par une substance mucilagineuse (KORF, 1973). Aux fins de comparaison nous examinerons aussi les parois cellulaires à l'intérieur de ces deux types de conceptacles.

L'influence de certains composants chimiques du milieu (métabolites ou antibiotiques) sur la structure de la paroi a été étudiée pour quelques champignons (BURNETT, 1979). La présence de sorbose par exemple dans le milieu de culture de *Neurospora crassa* entraîne un épaissement considérable de la paroi et l'apparition d'une strate externe, dense, de texture fibreuse (SHATKIN & TATUM, 1959). Les données concernant l'action des facteurs physiques (action de la température, du CO₂, de l'oxygène, du pH, de l'eau, etc.) concernent principalement les champignons dimorphiques (MOONEY & SYPHERD, 1976; COLE & NOZAWA, 1981). Mais les résultats portent sur le déterminisme du dimorphisme et sur les modifications de la constitution chimique plus que sur l'organisation des constituants pariétaux entre eux.

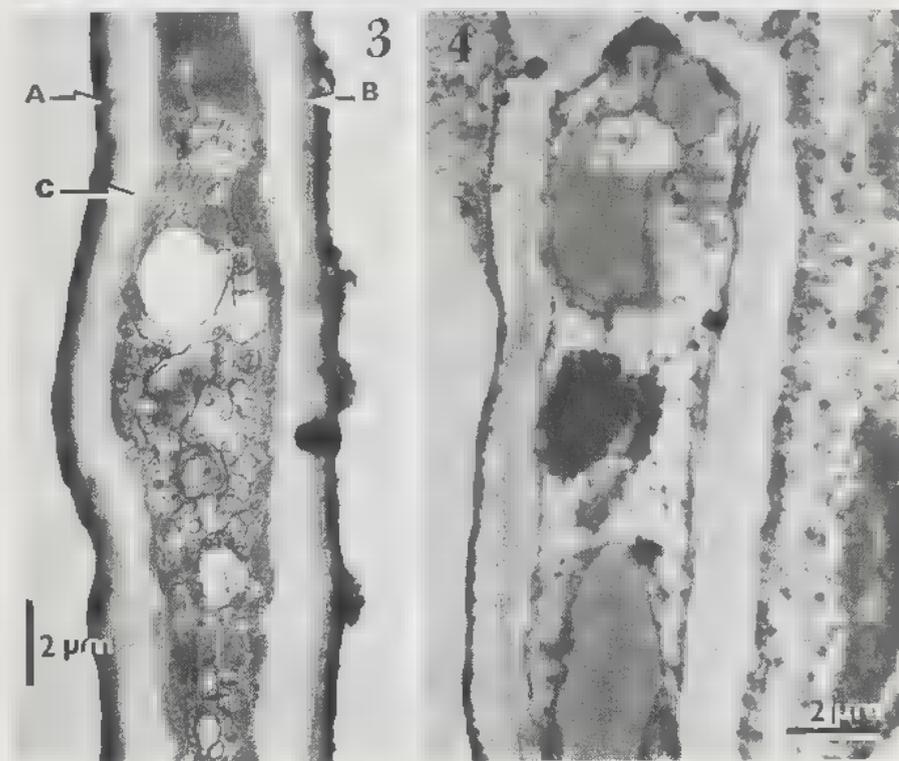
MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous avons examiné les filaments mycéliens de deux Hyphomycètes hyalins : *Aspergillus tamaritii* Kita et *Stilbothamnium nudipes* Haum., et un dématié : *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link.

Les champignons sont cultivés sur milieu à base de Malt gélosé à une température de 22°C. Après huit jours de développement, des fragments cubiques de culture contenant du mycélium intramatrix et du mycélium appliqué à la surface sont découpés et plongés dans le fixateur. D'autre part, sur la même culture, du mycélium aérien, superficiel, est prélevé en zone subpériphérique et

Planche 1. — Coupes transversales dans des hyphes de *S. nudipes*. 1. Mycélium aérien. La paroi est composée de trois strates A, B et C, elle-même constituée de deux sous-unités. 2. Mycélium appliqué à la surface du milieu gélosé. On note le décollement de A et l'extension d'un matériel fibreux (mf) sous-jacent. 3. Mycélium intramatrix. Extension considérable du matériel fibreux et disparition des strates A et B.

Plate 1. — Transverse section of *S. nudipes* hyphae. 1. Aerial mycelium. The wall is composed of three layers, A, B and C, its being made of 2 sub-layers. 2. Mycelium on the surface of agar. Note the way layer A is separating with an extension of the underlying fibrous material (mf). 3. Immersed mycelium, showing considerable extension of the fibrous material, and disappearance of layers A and B.



fixé à son tour. Lors de l'inclusion, nous avons orienté les petits blocs de culture de façon perpendiculaire au plan de coupe afin de localiser plus aisément la situation du mycélium par rapport à la gélose nutritive. Nous avons aussi cultivé ces champignons en milieu liquide à base de jus de carotte et séparé le mycélium par centrifugation. Enfin, nous avons étudié des coupes dans des acervules de *Marsoniella juglandis* (Lib.) Hönel emend. Roquebert et Fayret, prélevés directement à la surface des feuilles de *Juglans regia*. Les techniques de fixation et d'inclusion pour ce type de matériel ont été exposées dans un précédent article (ROQUEBERT, 1981).

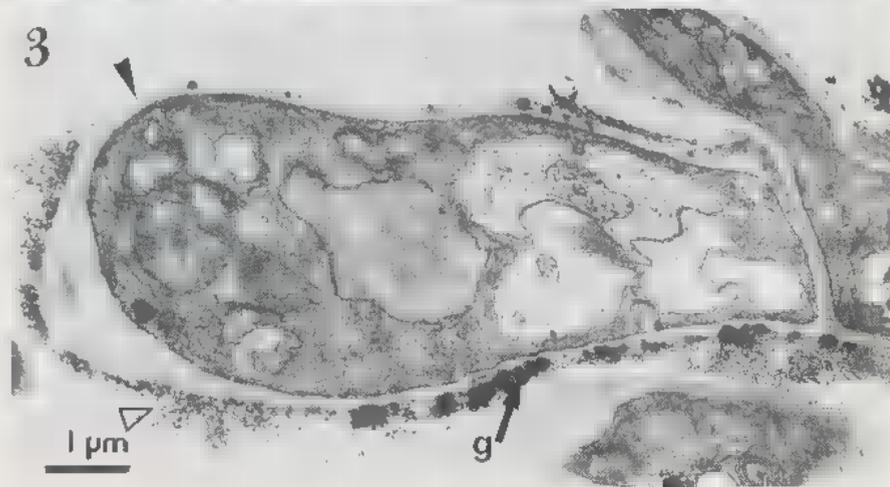
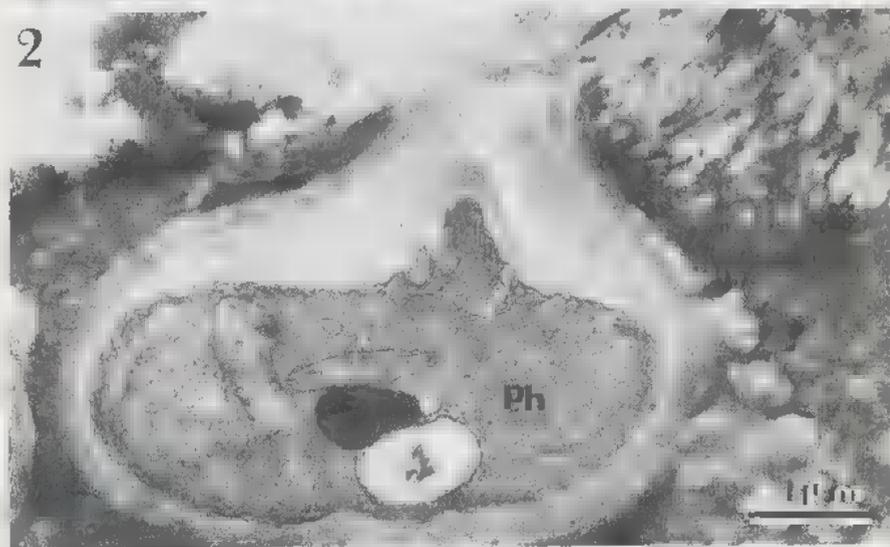
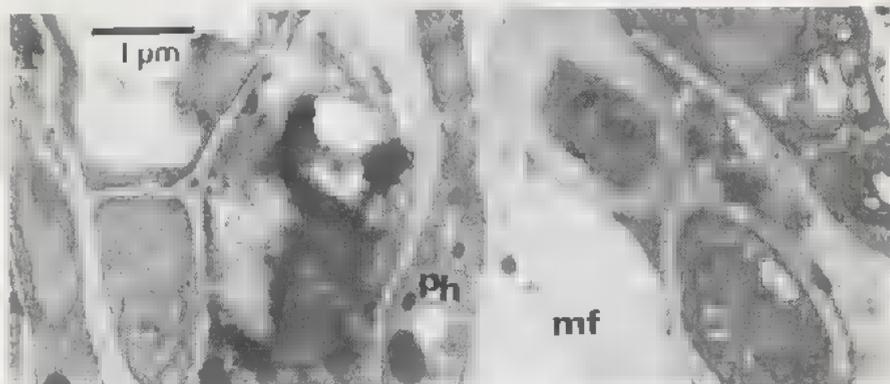
Pour les Ascomycètes, *Hypoderma rubi* (Pers.) D.C. ex Chev., *Lophodermella sulcigena* (Rostrup) Höhnel et *Lophodermium conigenum* (Brunaud) Hilitzer, les échantillons ont été placés pendant 24 heures dans un bain de glutaraldéhyde à 3 % dans un tampon phosphate 0,05 M (pH 7,2), puis transférés dans le tampon pur durant 24 heures, et enfin dans le tétr oxyde d'Osmium à 1 % dans le tampon, pour une durée d'une heure. Après déshydratation dans l'acétone (5 minutes par bain de dilution décroissante et 2 bains d'acétone pure) le matériel est inclus dans une résine TAAB après une série de bains résine/acétone prolongés, un jour pour les 4 premiers et 48 heures pour la résine pure. Il est ensuite mis à polymériser pendant 18 heures à 70°C puis coupé et coloré pendant 10 minutes dans une solution saturée d'acétate d'Uranyle, dans l'acétone, puis dans le citrate de plomb durant 25 minutes (REYNOLDS, 1963).

RÉSULTATS

1. La paroi des hyphes aériennes a une structure comparable chez les champignons hyalins et dématiés (Pl. 1 et 2). Elle est composée d'une fine pellicule externe opaque aux électrons (A) étroitement appliquée à une mince strate sombre, homogène, d'épaisseur régulière, (B); celle-ci limite une couche beaucoup plus épaisse, perméable aux électrons, de texture fibrillaire, la couche

Planche 2. - 1. Hyphe végétative de *A. tamaritii* en milieu liquide. Vers l'extérieur de la cellule le matériel fibreux (mf.) ■■ dissocie en fibres lâches (f). - 2, 3 et 4. Mycélium de *C. herbarum*. 2. Hyphes intramatriciales. On note la disparition de la strate A et la présence d'une substance amorphe renfermant des granules opaques, qui unit les hyphes entre elles (flèches). 3. Hyphe aérienne avec une paroi complète (A, B et C) pigmentée. 4. Hyphe appliquée à la surface de la gélose. (ma : milieu aérien, mg : milieu gélosé). La paroi de la face exposée au milieu aérien est dense et complète tandis que celle de la face située dans la gélose se dissocie en une couche lâche renfermant des granules opaques.

Plate 2. - 1. Vegetative hypha of *A. tamaritii* in liquid medium. Fibrous material (mf) is becoming dispersed in loose strands (f) towards the cell exterior. - 2, 3 and 4. Mycelium of *C. herbarum*. 2. Immersed hyphae. Note disappearance of layer A, and presence of amorphous material containing opaque granules and uniting the hyphae (arrows). 3. Aerial hyphae with pigmented and complete (A, B and C wall). 4. Hypha on the surface of agar. (ma : aerial environment; mg : agar environment). The wall on the side exposed to air is dense and complete, while that on the agar side is separated out into a loose cushion containing opaque granules.



C. Souvent on distingue à l'intérieur de C deux strates concentriques définies par l'orientation des fibrilles constitutives qui sont rectilignes vers l'extérieur tandis qu'elles sont ondulées vers le plasmalemme dont elles suivent les indentations (Pl. 1, fig. 1 et 2).

Dans le cas des champignons dématiés, des granulations que nous supposons de nature pigmentaire en raison de leur absence dans le mycélium hyalin, se superposent à cette structure fondamentale (Pl. 2). Leur densité est croissante de l'intérieur vers l'extérieur de la paroi où elles s'agrègent au niveau de A en une croûte très sombre, d'épaisseur irrégulière, tandis que B, plus claire, est d'aspect homogène et d'épaisseur à peu près constante. Enfin, la structure de la couche C est soulignée par la présence de petits grains opaques régulièrement disposés sur les fibrilles constitutives. La pigmentation est donc surtout visible dans les strates les plus externes, une mince zone hyaline persistant presque toujours au niveau du plasmalemme.

Cette structure pariétale peut être altérée suivant l'état physique du milieu, liquide ou gélosé, et, dans ce dernier cas, suivant la localisation des hyphes par rapport au substrat.

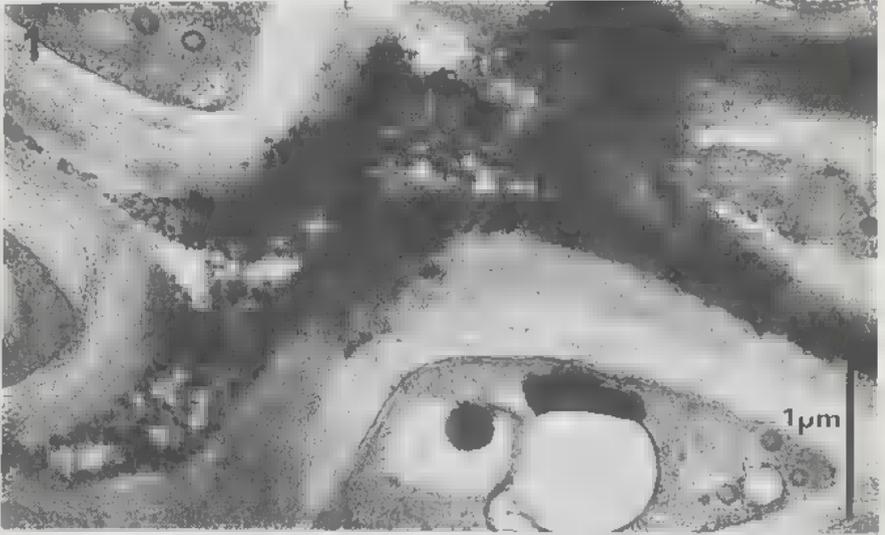
— Sur une hyphe de *S. nudipes* prélevée au contact du milieu gélosé, on peut observer que la pellicule externe A est, par endroits, décollée de la paroi fondamentale par suite de l'extension d'un matériel intercalaire de texture fibreuse (Pl. 1, fig. 2).

— Autour du mycélium intramatriciel, cette nouvelle enveloppe prend une extension considérable. Elle est constituée d'un réseau aux mailles lâches qui s'étend parfois jusqu'à la couche profonde de C (Pl. 1, fig. 3), tandis que la pellicule externe a complètement disparu (Pl. 1, fig. 2).

— En milieu liquide, le gonflement est tel que les fibrilles finissent par se désolidariser et se trouvent rejetées dans le milieu ambiant (Pl. 2, fig. 1). La désagrégation des constituants externes de la paroi peut donc conduire à une hyphe privée d'une partie de son enveloppe protectrice et dont la limite externe devient difficile à localiser (Pl. 2, fig. 1). La paroi des hyphes dématiées subit le même type de désagrégation et de dispersion des composants externes. La figure 4, (Pl. 2), montre une coupe dans une hyphe appliquée à la surface du milieu de culture. La partie aérienne de ce filament ■ une structure typique. Par contre, dans la partie située dans la gélose on note la désagrégation des constituants pariétaux externes, visualisés par la dispersion des grains de pig-

Planche 3. — Coupe dans le conidiome de *Marssoniella juglandis*. 1 et 2. Présence d'une substance fibreuse (mf) unissant les cellules du conidiome. ph : phialide. 3. Cellule sporogène dont la paroi montre par endroits des granulations sombres (g) externes, une formation réticulée lâche (tête de flèche) ou encore est complètement dénudée (tête de flèche noire).

Plate 3. — Sections of the conidioma of *Marssoniella juglandis*. 1 and 2 : Fibrous material (mf) uniting the conidioma component cells. ph: phialide. 3. Sporogenous cell with a wall showing in different places opaque granules (g), loose reticulation (arrowhead) and complete denudation (black arrowhead).



ment au sein d'une gaine réticulée lâche. En certains points, la paroi se trouve ainsi complètement dépourvue de son revêtement externe et peut, localement, perdre son aspect pigmenté. Contrairement à ce que l'on observe dans les hyphes hyalines, la couche B reste cependant identifiable dans la plupart des cas observés.

Lorsque les hyphes sont juxtaposées dans le milieu, elles sont liées entre elles par une sorte de réseau lâche qui pourrait résulter de la fusion des enveloppes externes, désagrégées, de chacune d'elles. Dans le cas des champignons dématés on observe, au sein de cette gaine commune, des granulations pigmentaires éparses (Pl. 2, fig. 2).

2. Conidiomes

Une texture analogue se retrouve entre les phialides contiguës à l'intérieur des acervules de *Marssonietta juglandis*. Les parois portent des granulations sombres disposées de façon très hétérogène ou en sont même, le plus souvent, totalement dépourvues et peuvent alors apparaître hyalines (Pl. 3, fig. 3). Les appareils sporogènes et les hyphes qui constituent le stroma de l'acervule sont unis entre eux par un matériel fibrillaire plus ou moins lâche selon la proximité des cellules (Pl. 3, fig. 2).

3. Ascomes

Au cours de leur agrégation et de la maturation du stroma, les cellules des ascocarpes de certaines Rhytismatacées (*Hypoderma rubi*, *Lophodermella sulcigena*, *Lophodermium conigenum*) subissent une transformation pariétale dans le même sens. En effet, lorsqu'elles sont jeunes et vivantes, elles sont entourées d'une paroi où l'on peut encore distinguer une épaisse couche C limitée à la périphérie par une strate opaque aux électrons nettement distincte par endroits. Au cours de la maturation du stroma, cette couche externe se désagrège d'abord au niveau des méats, libérant dans les espaces intercellulaires des granules opaques qui confluent avec ceux des cellules voisines. Dans un stroma mûr, la limite extérieure des parois cellulaires est impossible à distinguer;

Planche 4. — Coupes longitudinales à travers le clypeus de quelques espèces de Rhytismatacées. 1. *Lophodermella sulcigena* : cellules vivantes dans un jeune clypeus montrant une couche fibreuse élargie, avec des granules de matériel opaque (fm), et des dépôts commençant à cimenter les cellules adjacentes. 2. *Lophodermium conigenum* : identique à l'exemple 1. 3. *Hypoderma rubi* : cellules lysées dans un clypeus âgé. On notera que celui-ci est maintenant une structure inerte composée principalement de dépôts opaques formant un « ciment ».

Plate 4. — Vertical transverse sections of the clypeus of various species of the Rhytismataceae. 1. *Lophodermella sulcigena* : living cells in young clypeus, showing enlarged fibrous layer with granules of opaque material (fm), and opaque deposits beginning to cement adjacent cells. 2. *Lophodermium conigenum*, a similar example to 1. 3. *Hypoderma rubi* : dead cells in old clypeus. Note how no cellular contents remain and the clypeus is now an inert structure composed principally of opaque deposits forming a « cement ».

les cellules, vidées de leur contenu, sont entourées d'une fine paroi lamellaire, la couche C, qui se fond vers l'extérieur dans le « ciment » dense qui occupe tous les espaces intercellulaires et unit ainsi les cellules entre elles (Pl. 4).

DISCUSSION

Les observations que nous venons d'exposer montrent que la structure de la paroi des hyphes (hyalines ou pigmentées) est susceptible d'être modifiée selon son environnement. Ce changement de structure peut aller jusqu'à la disparition des composants externes, laissant la paroi limitée à une mince enveloppe, la couche C, autour du plasmalemme.

Les causes éventuelles de cette transformation et ses incidences sur la morphogenèse doivent alors être considérées.

D'après les conditions culturales dont nous avons pu observer les effets, plusieurs facteurs peuvent être mis en cause : la diminution de l'oxygénation, le taux d'humidité ambiante, ou l'état fonctionnel de la paroi dans les échanges entre le milieu et la cellule.

Le comportement de la paroi des hyphes immédiatement appliquées à la surface de la gélose tendrait à montrer que la désagrégation est plutôt liée à l'activité absorbante de la paroi et à une oxygénation moindre. En effet, la face inférieure est désagrégée tandis que la face supérieure, exposée à l'air et sans contact direct avec le milieu nutritif, ■ une structure complète et ténue. Dans ce cas, le facteur humidité ne semble pas responsable du changement structural puisque son taux n'est pas sensiblement différent aux 2 niveaux. L'ambiance de la boîte de Pétri que nous avons considérée comme « condition aérienne » a, en effet, une humidité relative équivalente à celle du milieu gélosé (95-96 % selon CAHAGNIER, com. pers.). Pourtant, en milieu liquide, la désagrégation est très importante (Pl. 2, fig. 1). Il pourrait s'agir d'une sorte de solubilisation de certains composants des strates externes, sans doute polysaccharidiques, la partie protéique n'étant pas touchée par ce phénomène. Le réseau de fibres protéiques se trouve ainsi relâché et s'étale vers l'extérieur.

Des modifications structurales analogues à celles que nous avons décrites ont été mises en évidence dans les hyphes de *Bipolaris maydis* (EVANS & STEMPEN, 1980; EVANS & al., 1981). Les auteurs interprètent les figures de dispersion des composants externes et leur agrégation en une couche compacte irrégulière comme les phases successives caractérisant les hyphes jeunes puis les hyphes âgées. Cependant le matériel étant prélevé, pour les hyphes jeunes en périphérie de la culture, donc intramatriciel ou superficiel, et pour les hyphes âgées au centre du thalle où la proportion de mycélium aérien est beaucoup plus forte, on peut penser que les figures de EVANS & al. reflètent le même phénomène que les nôtres et relèvent de la même interprétation. Dans le même sens, WHEELER & GANTZ (1979), ont montré que, sur feuille d'avoine, les hyphes de *Bipolaris maydis* peuvent être entourées d'une gaine fibrilleuse épaisse lorsqu'elles sont sous la cuticule foliaire ou en suspension dans une goutte d'eau distillée.

Dans le cas des champignons dimorphiques, l'expression du dimorphisme est liée aux conditions de développement et s'accompagne généralement de modifications sensibles dans la structure et la composition pariétales (COLE & NOZAWA, 1981). Dès 1962, BARTNICKI-GARCIA & NICKERSON avaient observé que la formation des blastospores chez *Mucor rouxii* (*Amylomyces rouxii*), en milieu liquide, s'accompagnait d'un épaissement considérable de la paroi. GARRISSON & al. (1975) ont établi que, en milieu liquide, les hyphes de *Sporothrix schenkii* bourgeonnent directement des blastospores. Elles sont alors entourées d'un matériel microfibrillaire lâche, dense aux électrons, analogue à celui que nous avons observé. Selon les auteurs, cette substance réticulée est de même nature (mucoside acide) que celle qui constitue la couche pariétale externe homogène et dense, de la forme levure obtenue en milieu gélosé.

Cette faculté de désagrégation que possède la paroi végétative en réaction aux conditions de développement peut avoir des conséquences sur la morphogénèse.

La poussée des formations endogènes (bourgeonnement, ramification) peut s'extérioriser de façon différente selon l'épaisseur et la consistance plus ou moins plastique de l'enveloppe qu'ils ont à franchir. L'incidence de la plasticité pariétale sur le mode de conidiogénèse a déjà été soulignée (MADELIN, 1979; ROQUEBERT, 1981) en invoquant l'état de maturation de l'enveloppe pariétale. Si l'on considère que, comme la paroi intramatricale, une paroi jeune est essentiellement constituée d'une couche C, on peut supposer des effets comparables au moment du bourgeonnement. Ainsi, par exemple, pourrait s'expliquer le fait que l'on n'ait jamais pu observer de conidies en chaînes (conidies sèches) ou de trétoconidies dans l'ambiance humide d'un coelome et la relative fréquence des formes levure d'Hyphomycètes cultivés en milieu liquide.

Directement ou indirectement l'hyphes est à la base de toutes les structures différenciées (conidiophores, conidiomes, ascotes). LATHAM (1974) a pu constater, en microscopie optique, que les conidiophores de *Cristulariella pyramydalis* sont ramifiés quand le champignon est incubé à 96 % d'humidité relative alors qu'ils sont normalement simples sur leur hôte naturel. Par ailleurs, on observe dans la paroi des hyphes qui participent à la genèse des conidiomes de *Marssoniella* et des ascotes des Rhytismatacées une évolution analogue à celle des hyphes intramatricales : dispersion des composants des strates externes dont le terme ultime est l'agrégation des corpuscules libérés en une sorte de ciment dense unissant entre elles les cellules dont la paroi est limitée à la couche C lamellaire. GOURBIERE & MORELET (1980) ont pu montrer que la formation des pycnides de *Rhizosphaera pini* et *Rhizosphaera kobayashii* obtenues en culture débute par l'apparition d'une gaine mucilagineuse autour d'hyphes submergées hyalines (alors que les hyphes dressées sont pigmentées). A l'intérieur de la masse de mucilage ainsi constituée s'organisent les filaments conidiogènes qui limitent ensuite une cavité centrale. DI COSMO & COLE (1980) ont rapporté une observation dans le même sens lors de l'analyse en microscopie optique et à balayage, des premiers stades de la formation des pycnides de

Chaetomella acutiseta qui, à l'état mûr, sont encore recouvertes par le mucilage solidifié.

La juxtaposition des cellules constituant la paroi d'un coelome, à la surface ou dans le milieu, s'accompagne donc de modifications structurales de la paroi analogues à celles d'une hyphe solitaire immergée. Une situation naturelle, physiquement déterminée, pourrait être indispensable à l'accomplissement de tel ou tel type de morphogenèse.

Nous avons étudié les modifications de la structure pariétale en phase végétative. On peut aussi se demander si la paroi des spores, des endospores en particulier, est sensible de la même façon. En effet, elles sont contenues dans un ensemble clos et humide qui pourrait être assimilable aux conditions intramatrixales. Cependant la genèse pariétale est différente, du moins dans le cas des ascospores (PARGUEY-LEDUC & JANEX-FAVRE, 1981; BELLEMERE & al, 1981), qui se différencient à l'intérieur de la double membrane du sac ascal. Les données actuelles ne semblent pas montrer de figures comparables à celles que nous venons d'exposer. Cependant, l'origine des enveloppes mucilagineuses présentes autour de certaines d'entre elles (*Lophodermium* par exemple) serait intéressante à analyser.

Nous tenons à remercier Mesdames E. BURY et M. DUMONT, ainsi que Miss G. GODWIN, pour leur collaboration technique.

BIBLIOGRAPHIE

- BARTNICKI-GARCIA S. and NICKERSON W.J., 1962 — Induction of yeast-like development in *Mucor* by carbon dioxide. *J. Bacteriol.* 84 : 829-840.
- BELLEMERE A., MELENDEZ-HOWELL L., NICOLAS A. et ROSSIGNOL J.L., 1981 — Étude ultrastructurale comparative du développement des ascospores chez la lignée sauvage et chez les mutants à ascospores «ceinturées» ou «albinos» de *Ascobolus immersus* Pers. ex Fr. *Cryptog. Mycol.* 2 : 299-360.
- BURNETT J.H., 1979 — Aspects of the structure and growth of the hyphal walls. In : J.H. BURNETT & A.P.J. TRINCI, *Fungal walls and hyphal growth*, Cambridge, Cambridge University Press.
- COLE G.T. and NOZAWA Y., 1981 — Dimorphism. In : B. KENDRICK & G.T. COLE, *Biology of conidial fungi*, 1, N. Y., Academic Press.
- DI COSMO F. and COLE G.T., 1980 — Morphogenesis of conidiomata in *Chaetomella acutiseta* (Coelomycetes). *Can. J. Bot.* 58 : 1129-1137.
- EVANS R.C. and STEMPEN H., 1980 — Evidence for pellicle-bound excrescences on hyphal walls of *Bipolaris maydis*. *Mycologia* 72 : 523-533.
- EVANS R.C., STEMPEN H. and STEWART S.J., 1981 — Development of hyphal sheaths in *Bipolaris maydis* race T. *Can. J. Bot.* 59 : 453-459.

- GARRISSON R.G., BOYD K.S. and MARIAT F., 1975 - Ultrastructural studies of the mycelium to yeast transformation of *Sporothrix schenckii*. *J. Bacteriol.* 124 : 959-968.
- GOURBIERE F. et MORELET M., 1980 - Le genre *Rhizosphaera* Mangin et Hariot, 2 : *R. pini*, *R. kobayashii* et *R. kalkoffii*. *Cryptog. Mycol.* 1 : 69-81.
- KORF R.P., 1973 - Discomycetes and Tuberales. In : G.C. AINSWORTH & al., *The fungi*, IV A. N. Y. & London, Academic Press.
- LATHAM A.J., 1974 - Effect of moisture on conidiophore morphology of *Cristallariella pyramydalis*. *Phytopathology* 64 : 1255-1257.
- MADÉLIN M.F., 1979 - An appraisal of the taxonomic significance of some different modes of producing blastic conidia. In : B. KENDRICK, *The whole fungus*, Ottawa, Nat. Mus. of Canada Pub.
- MINTER D.W., KIRK P.M. and SUTTON B.C., 1982 - Holoblastic phialides. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 79 : 75-93.
- MOONEY D.T. and SYPHERD P.S., 1976 - Volatile factor involved in the dimorphism of *Mucor racemosus*. *J. Bacteriol.* 126 : 1266-1270.
- PARGUEY-LEDUC A. et JANEX-FAVRE M.C., 1981 - Étude ultrastructurale des asques et des ascospores de truffes du genre *Tuber*. 1 : les asques. *Cryptog. Mycol.* 2 : 37.
- REYNOLDS E.S., 1963 - The use of lead citrate at high pH as an opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.* 17 : 208-212.
- ROQUEBERT M.F., 1981 - Analyse des phénomènes pariétaux au cours de la conidiogénèse chez quelques champignons microscopiques. *Mém. Mus. Nat. Hist. Nat., série B.* 28 : 1-112.
- SHATKIN A.J. and TATUM E.L., 1959 - Electron microscopy of *Neurospora crassa* mycelia. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 6 : 423-426.
- WHEELER A. and GANTZ D., 1979 - Extracellular sheaths on hyphae of two species of *Helminthosporium*. *Mycologia* 51 : 1127-1135.

DEVELOPMENTAL MORPHOLOGY OF ASCOMYCETES

XI. *NECTRIA KERA*

by C.V. SUBRAMANIAN and D. Jayarama BHAT*

SUMMARY. — Study of the developmental morphology of new species : *Nectria kera* Subramanian & Bhat (Hypocreale), and its anamorph *Cylindrocarpon* sp.

RÉSUMÉ. — Étude de l'organogénèse d'une espèce nouvelle d'Hypocréales : *Nectria kera* Subramanian & Bhat, et de son anamorphe *Cylindrocarpon* sp.

MOTS CLÉS : Ascomycète, Hypocréale, organogénèse, *Nectria*.

This paper is the eleventh in a series on the developmental morphology of Ascomycetes and deals with *Nectria kera* sp. nov. Our observations are based on a study of a fungus isolated from spathe of *Cocos nucifera* L., collected at Kandy, Sri Lanka, and it belongs to the *Coccinea*-group (BOOTH, 1959) of the genus *Nectria*; it differs from other known species of the genus to warrant placement in a new taxon. Single ascospore isolates when inoculated on sterilized pieces of *Cocos nucifera* and incubated in Roux-tubes mature perithecia developed after six weeks. For studying the various stages in the development of the anamorph and teleomorph, methods described earlier (SUBRAMANIAN & BHAT, 1978) were followed.

Nectria kera sp. nov. (Fig. 24-27; Plate II, d-h)

Perithecia superficialia, solitaria vel 2-8 aggregata, globosa ad pyriformia, rubra vel latericia, papillata, ostiolata, 290-520(390) x 220-410(320) µm, stromati pseudoparenchymati debiliq̄ue insedentia, leavitunicata, sicca intacta. Paries peritheciale, sectione longitudinale, 20-45 µm latum, constanter duobus fere distinctis stratis : stratum externum et stratum internum. Stratum externum 15-25 µm latum, cellulis 2-3 seriebus, crassitunicates, oblongis ad globosis, 10.3-14.5 x 11.2 µm constantibus; stratum vero internum 10-25 µm latum,

* Centre of advanced study in Botany, University of Madras, Madras - 600 005, India.

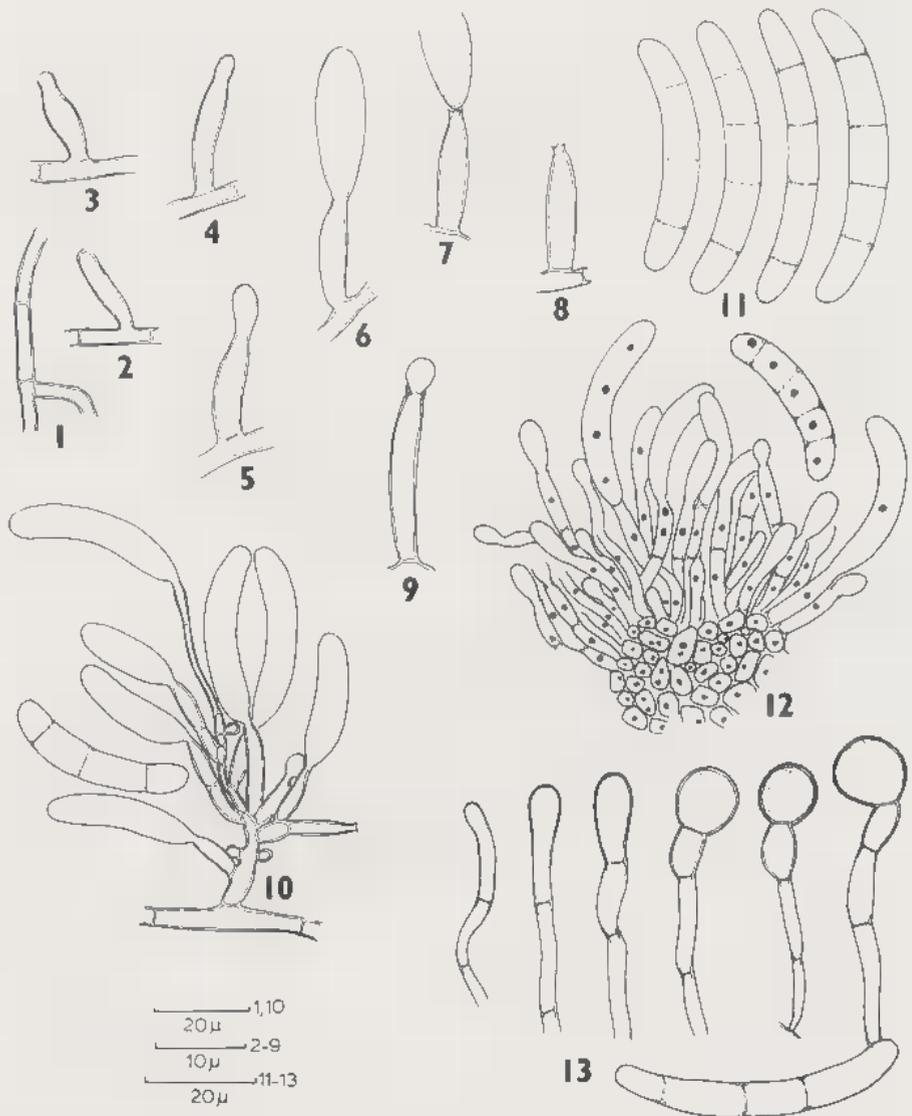


Fig. 1-13 : *Nectria kera*. — 1. portion of a vegetative hypha; 2-9. stages in the development of phialide and conidium; 10. conidiophore bearing phialides and conidia; 11. conidia; 12. section through a sporodochium; 13. stages in the development of chlamydospore.

Fig. 1-13 : *Nectria kera*. — 1. fragment d'hyphe végétative; 2-9. développement d'une phialide et d'une conidie; 10. conidiophore portant des phialides et des conidies; 11. conidies; 12. coupe à travers une sporodochie; 13. développement d'une chlamydospore.

cellulis 5.6-14.0 x 3.2-4.2 μm , tenuitunicatis, angustis, elongatis constantibus; papillae peritheciales breves atque hyphis non ramosis, crassis, parallele dispositis, 50-70 μm altae; 90-100 μm latae.

Asci unitunicate, clavati, brevistipitati, tenuitunicati, 8-sporati, 60-85(68.5) x 10.0-14.0 μm , apicibus rotundatibus atque simplicibus. Ascospores ellipsoideae, 1-septate, aequae bicellulatae, ad septa leaviter constrictae, hyalinae, manifeste verrucosae, 18.0-24.5(22.5) x 6.5-9.0(8.2) μm ; supra biseriatum, infra vero uniseriatum dispositae in ascus.

Typus : In *Spathie Cocos nucifera* L., collectis Kandy, Sri Lanka, 25-10-1975 a C. V. Subramanian et positus in MUBL Herbario sub numero 2401.

Status conidialis : *Cylindrocarpon* sp.

CULTURAL CHARACTERS

Ascospores germinating overnight on potato dextrose agar, malt extract agar, and in distilled water producing one or two germ tubes from each cell. Colony on potato dextrose agar pale, attaining a diam. of 2.5-3.0 cm in 12 days, with even margin, with reverse light brown; colony on malt extract agar floccose, dense, attaining a diam. of 3.5-4.5 cm in 12 days, with uneven margin, with surface yellow and reverse purple. On potato dextrose agar mycelium white initially, later becoming pale brown; aerial hyphae septate, branched, up to 2.0-4.2 μm wide (Fig. 1); in old cultures adpressed mycelium becoming thick-walled, pigmented, and with elongated swollen cells 14.0-26.0 μm wide. Conidiophores developing on aerial hyphae, 20-35 μm long, branched or unbranched, septate, with dense cytoplasm, producing phialides laterally and terminally (Fig. 10; Plate I, a). Phialides cylindrical to subcylindrical, slightly swollen at the base, narrowed towards the tip, with a distinct collarete, 12.5-17.5 x 3.0-4.0 μm (Fig. 8), producing only macroconidia.

Macroconidia of nearly uniform width throughout, curved, distinctly dorsoventral, with smoothly rounded ends, without foot-cell, hyaline, 3-5 septate (Fig. 11; Plate I, g), measuring

3-septate conidia	30.0-42.5(37.5) x 5.2-5.6 μm
4-septate conidia	35.5-45.5(42.5) x 5.5-6.0 μm
5-septate conidia	50.0-65.5(58.5) x 5.8-6.2 μm

Chlamydospores (Fig. 13) terminal on vegetative hyphae, intercalary in conidia, subglobose to globose, 13.5-15.5 μm in diam.

In old cultures, phialides aggregating on plectenchyma composed of thick-walled hyphae and forming sporodochia (Fig. 12); sporodochia 50-90 μm high, 170-210 μm wide, surmounted by cream coloured macroconidia.

The noteworthy features of this fungus are the possession of red and semi-translucent perithecia, perithecial wall being pseudoparenchymatous and composed of irregularly arranged cells of variable shape and size (not filiform or elongated as in *Nectria mammoidea*) in the outer region, large ascospores with

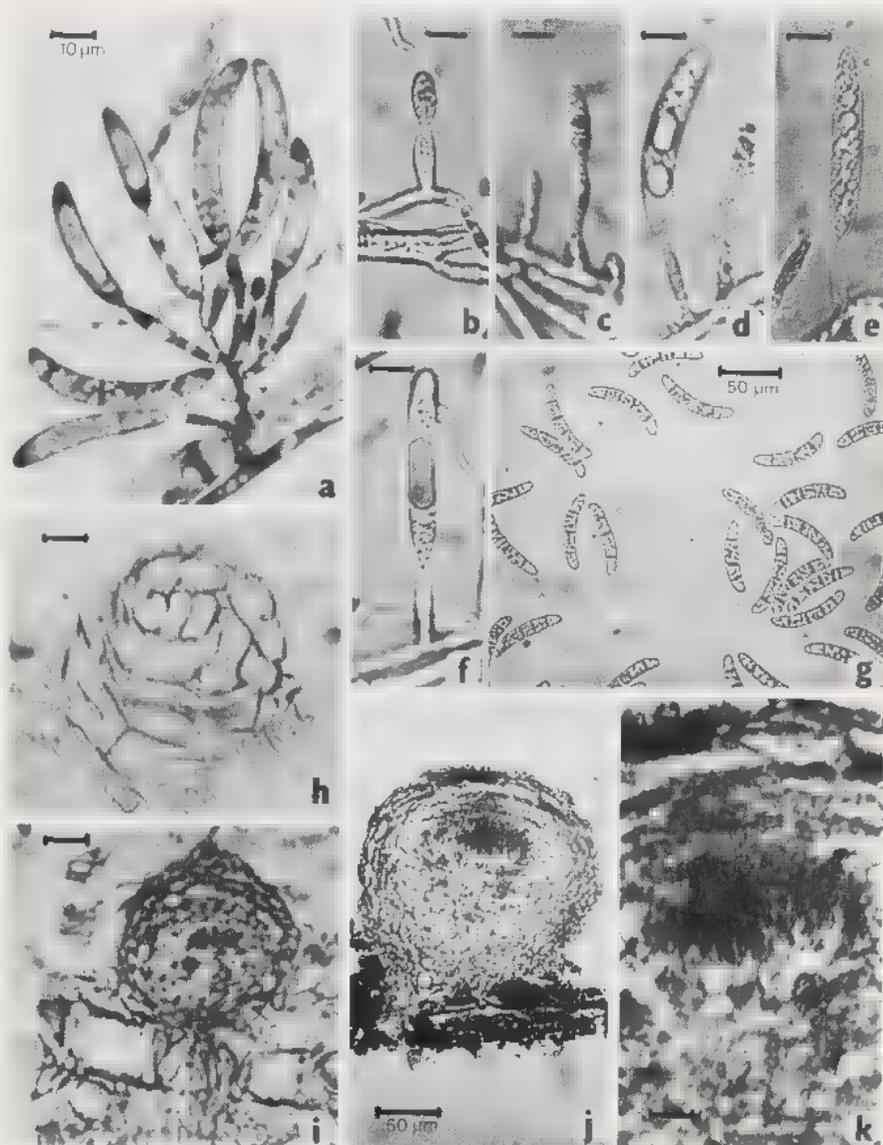


Plate I. — *Nectria kera* : a. a conidiophore with phialides and conidia; b-f. stages in the development of conidium; g. conidia; h. an ascogonium surrounded by hyphae; i. section through a coiled ascogonium surrounded by hyphae; j-k. sections through perithecial centrum showing apical paraphyses.

Planche I. — *Nectria kera* : a. conidiophore avec phialides et conidies; b-f. stades de développement d'une conidie; g. conidies; h. ascogone entouré d'hyphes; i. coupe à travers un ascogone enroulé, entouré d'hyphes; j-k. coupe à travers un jeune périthèce montrant des paraphyses apicales.

distinct verrucosities in the epispore, and the absence of microconidia. The fungus was isolated from spathe of *Cocos nucifera*. When inoculated on same substrate mature perithecia are formed after six weeks.

The possession of red or semi-translucent perithecia, and thick-walled, pseudoparenchymatous perithecial wall are features of the *Coccinea*-group of the genus *Nectria* (BOOTH, 1959). Compared to the five species so far known in the *Coccinea*-group (*Nectria coccinea* (Pers.) Fr., *N. galligena* Bres., *N. ditissima* Tul., *N. punicea* (Schmidt ex Fr.) Fr. ex Rabenh., *N. hederæ* Booth and *N. fockeliana* Booth) the perithecia and the ascospores are larger in our fungus and the latter being distinctly verrucose. Mostly species of *Nectria* in the *Coccinea*-group occur on hosts belonging to either dicots or Gymnosperms. Our fungus is isolated from a monocot (palm). There is no other taxon which combines the unique features of our fungus and we are therefore accommodating it in the genus *Nectria* as ■ new species.

DEVELOPMENT OF THE ANAMORPH

In slide culture macroconidia develop in 5-6 days after inoculation. Conidiophores arise as lateral branches on the vegetative hyphae. Phialides may be the terminal cells of the conidiophores or may arise laterally on the conidiophore. During the formation of a lateral phialide, a lateral bud arises on the conidiophore and elongates (Fig. 2). When it attains its full size, ■ basal septum delimits it from the conidiophore. The wall of the phialide is uniform in thickness except at the neck where it is slightly thickened.

The development of the conidium is as follows. Initially, the phialide is cylindrical in shape and rounded at the tip. Early in the development of the conidium, the tip of the phialide buds out a small protuberance (Fig. 3). With further development, the protuberance elongates and swells (Fig. 4-6; Plate I, b-c). As the conidium initial elongates its contents become granular and the conidium initial slightly bends in the middle (Plate I, d-f). When the conidium becomes fully mature, a septum is laid down in the neck region of the phialide delimiting the conidium (Fig. 7). The liberated conidium is smoothly rounded at both ends. The mature conidium is 4-5 celled, each cell being uninucleate (Fig. 11, 12). As the first conidium is liberated, ■ second conidium initial appears in the open end of the phialide and develops into a second conidium (Fig. 9). This process is repeated so that ■ number of conidia are produced from ■ phialide in a basipetal sequence.

The chlamydospores usually develop in old cultures. The development of the chlamydospore is as follows (Fig. 13). The apical part of the terminal cell of a vegetative hypha gradually swells and is delimited from a subtending cell by the formation of a septum. The swollen apical cell is the developing chlamydospore and the contents of this cell and the subtending cell are granular. Mature chlamydospores are globose, thick-walled and contain dense cytoplasm.

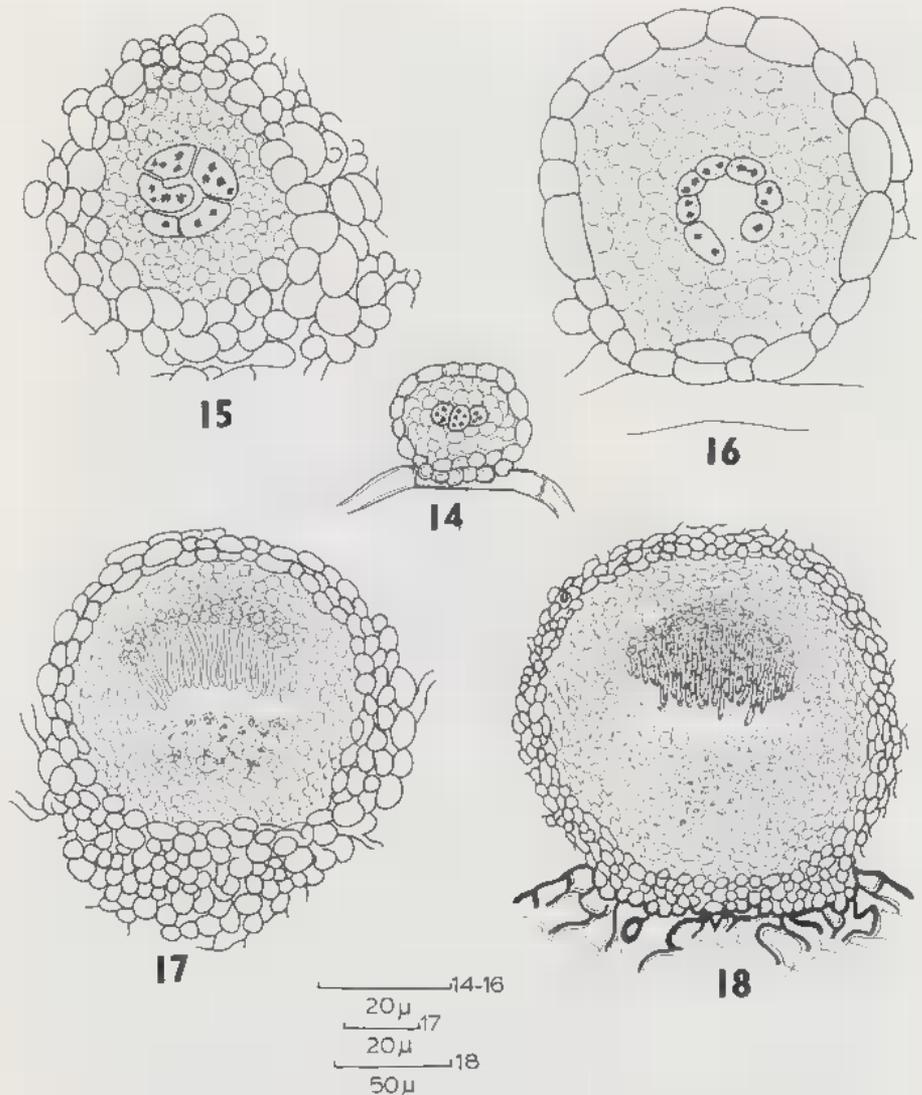
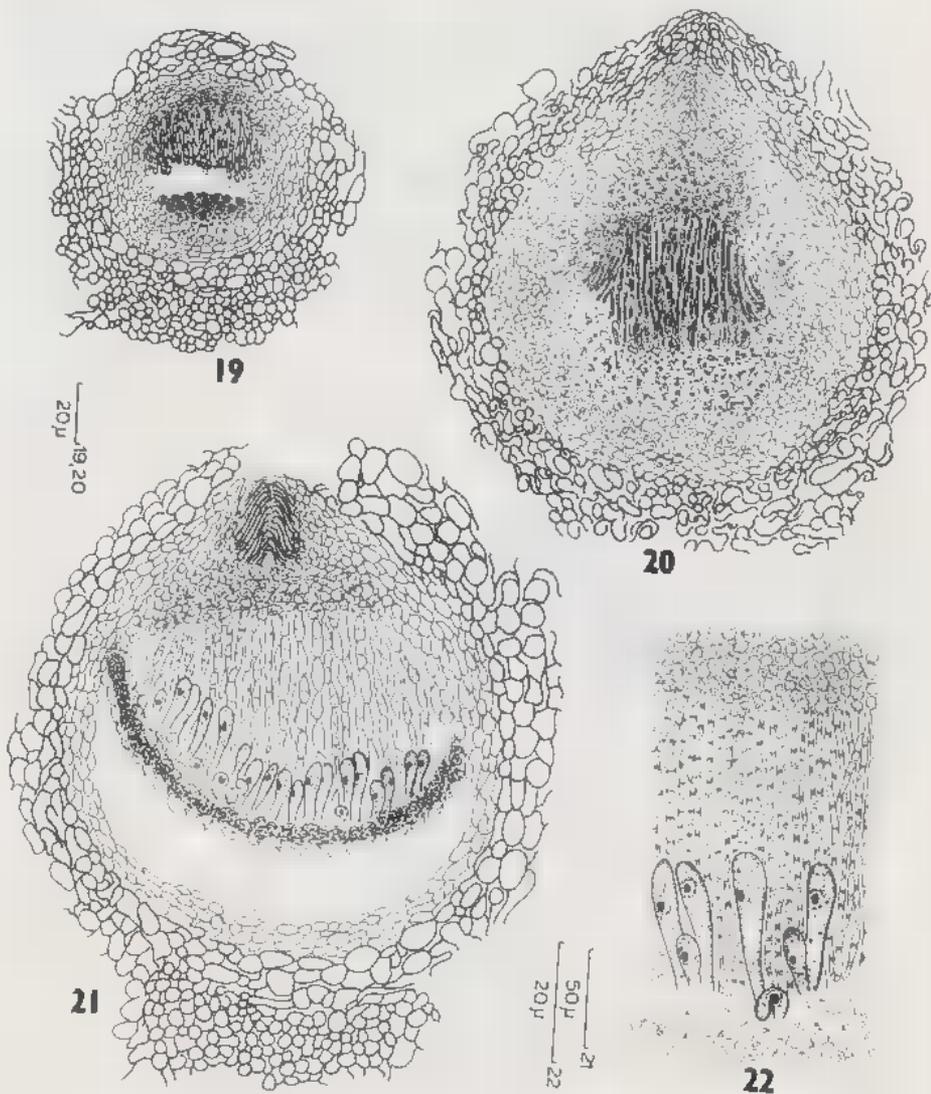


Fig. 14-18. — *Nectria kera*: 14-16, stages in the development of ascogonium and young perithecial centrum; 17-18, sections through young perithecial centra showing apical paraphyses.

Fig. 14-18. — *Nectria kera*: 14-16, développement d'un ascogone et d'un primordium de périthèce; 17-18, coupes à travers de jeunes périthèces montrant des paraphyses apicales.

Fig. 19-22. — *Nectria kera*: 19, section of perithecial centrum showing apical paraphyses. Note the well differentiated inner and outer regions of perithecial wall; 20, longitudinal



section of a perithecium showing apical paraphyses filling the entire centrum cavity; 21. section of perithecium showing the development of asci interspersed with apical paraphyses. Note also formation of ostiole lined with paraphyses; 22. portion of centrum showing asci interspersed with apical paraphyses (enlarged).

Fig. 19-22. — *Nectria kera* : coupes à travers des périthèces. 19. paraphyses apicales. On remarque la différenciation d'une couche interne et d'une couche externe dans la paroi du périthèce; 20. paraphyses apicales remplissant la cavité centrale; 21. développement des asques mêlés aux paraphyses apicales. On note la formation d'un ostiole bordé de paraphyses; 22. détail de 21.

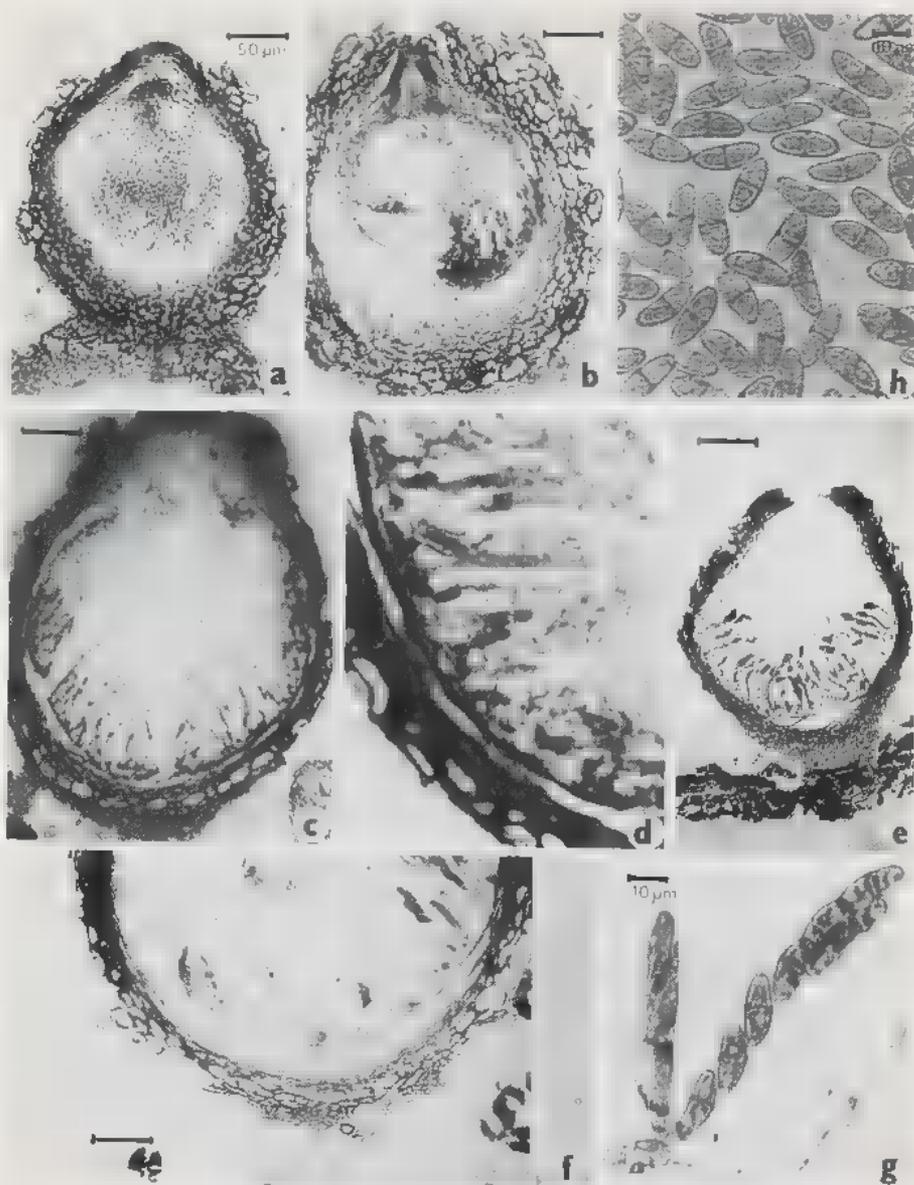


Plate II. — *Nectria kera* : a. section through a perithecial centrum showing apical paraphyses in the form of a palisade-like layer; b-d. longitudinal sections of young perithecia showing apical paraphyses (d = portion of c, enlarged); e-f. longitudinal sections of mature perithecia; g. asci; h. ascospores.

Planche II. — *Nectria kera* : a. coupe à travers un jeune périthèce montrant des paraphyses apicales groupées en palissade; b-d. coupes longitudinales d'un jeune périthèce montrant des paraphyses apicales (d = détail de c); e-f. coupes longitudinales de périthèces mûrs; g. asques; h. ascospores.

DEVELOPMENT OF THE TELEOMORPH

The first indication of perithecial development observed by us is the appearance of an ascogonium containing 4-5 cells surrounded by thick-walled vegetative hyphae presumably developed from the base of the ascogonium (Plate I, h). A fully developed ascogonium is a coil of swollen multinucleate cells whose cytoplasm is dense and more deeply staining than the surrounding hyphal cells (Fig. 16). Each cell of the ascogonial coil contains 2-6 nuclei (Fig. 14). The cells of the hyphae surrounding the ascogonium now divide to produce a pseudoparenchymatous envelope of about 4-6 layers of cells of which the outer most layer becomes slightly thick-walled and inner cells remain thin-walled (Fig. 15; Plate I, i). At this stage the ascogonium becomes coiled and its cells become swollen and multinucleate. The thin-walled cells surrounding the ascogonium continue to divide and later differentiate into an inner zone of thin-walled pseudoparenchymatous cells and an outer zone of somewhat larger thick-walled pseudoparenchymatous cells and these two zones together constitute the wall of young perithecium (Fig. 17). In further development, a cavity is formed around the ascogonium presumably due to disintegration of cells in that region. At the apex of the cavity so formed, the thin-walled cells become «meristematic» and produce a palisade of darkly staining, thin-walled, septate, cylindrical filaments which grow down into the cavity (Fig. 18, 19; Plate I, j-k). These are the apical paraphyses. Cells of the apical paraphyses are uni- or binucleate.

During the downward growth of the apical paraphyses, the ascogonial cells are pushed down and the apical paraphyses ultimately touch the base of the perithecial cavity (Fig. 20; Plate II, a). The cells immediately below the ascogonium become enlarged and vacuolated. Asci are produced at the base of the perithecial cavity and grow upward interspersed with apical paraphyses (Fig. 21, 22; Plate II, b-d). Apical paraphyses eventually disintegrate (Fig. 23; Plate II, c) and mature perithecium is paraphysate (Fig. 24; Plate II, e).

The formation of the ostiole takes place at the time the asci start growing upward (Fig. 20, 21; Plate II, a-b). Cells of the inner region of the perithecial wall at the morphological apex of the perithecium grow upwards and develop an ostiolar neck. By dissolution of cells in its core a narrow canal develops. The ostiolar canal extends from the centrum cavity to the exterior. The cells in the ostiolar neck are thick-walled and are in the form of unbranched hyphae with rounded tips (Fig. 25). The cells lining the ostiolar canal produce slender paraphyses.

DISCUSSION

The anamorph of *Nectria kera* is a *Cylindrocarpon*-state. The first step in the development of the perithecium is the formation of a coiled, septate ascogonium, the cells of which are multinucleate. The perithecial centrum belong

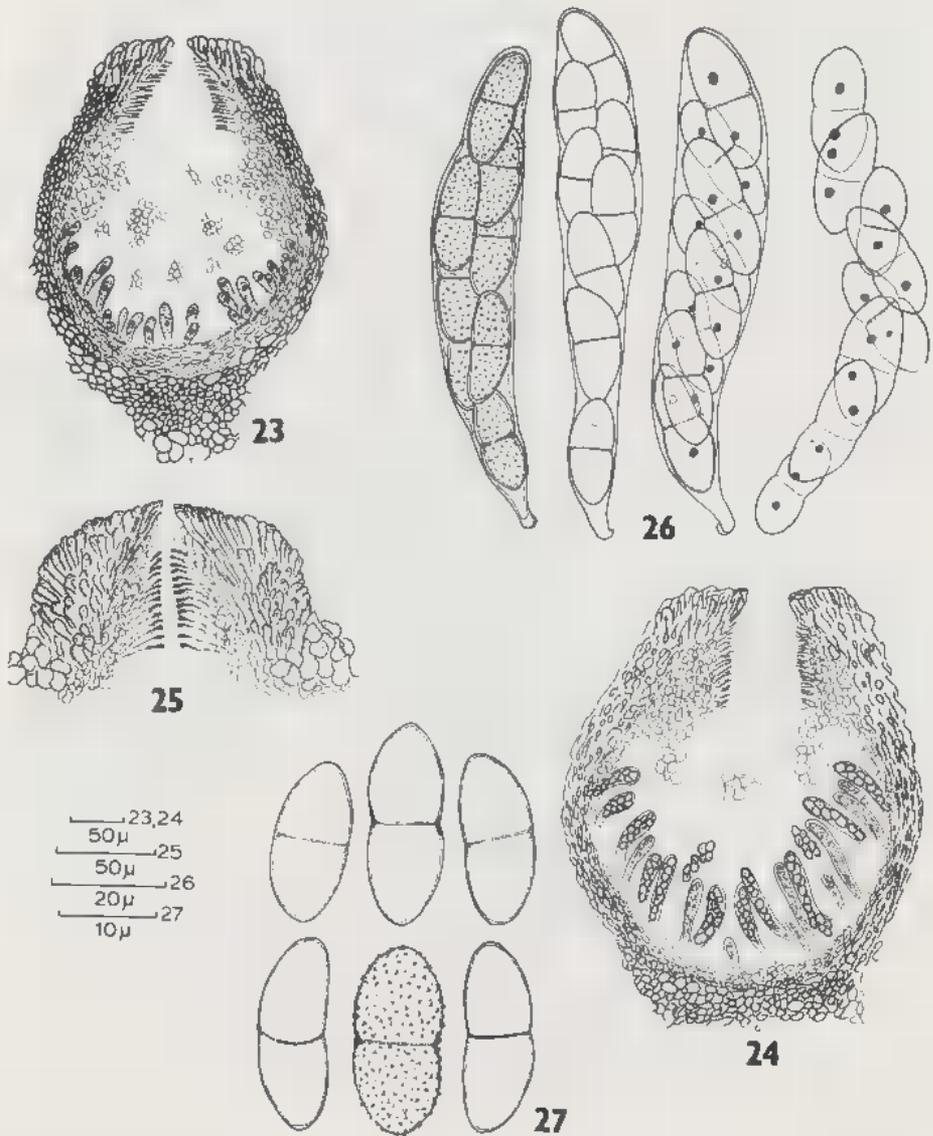


Fig. 23-27. — *Nectria kera* : 23. longitudinal section of a young perithecium; 24. longitudinal section of a mature perithecium; 25. longitudinal section of ostiolar region (enlarged); 26. three asci and group of eight ascospores; 27. ascospores.

Fig. 23-27. — *Nectria kera* : 23. coupe longitudinale d'un jeune périthèce; 24. coupe longitudinale d'un périthèce mûr; 25. détail de la région ostiolaire; 26. asques et ascospores; 27. ascospores (détail).

to the *Nectria*-type (LUTTRELL, 1951) with apical paraphyses. Thus *Nectria kera* is a good hypocreaceous fungus. We have so far informations on the developmental morphology of as many as nine species of the genus *Nectria*, and *N. kera* is in conformity with all those, including *N. cinnabarina* (Tode ex Fr.) Fr. which is the type species of the genus.

BIBLIOGRAPHY

- BOOTH C., 1959 — Studies of Pyrenomycetes IV. *Nectria* (Part I). *Mycol. Pap.* 73 : 1-115.
LUTTRELL E.S., 1951 — Taxonomy of the Pyrenomycetes. *Univ. Mo. Stud.* 24 : 1-120.
SUBRAMANIAN C.V. & BHAT J., 1978 — Developmental morphology of Ascomycetes. III. *Monographella nivalis*. *Rev. mycol.* 42 : 293-305.

LA CULTURE D'UN CHAMPIGNON PAR LES FOURMIS ATTINES

Mise en évidence de phénomènes d'antibiose dans le nid

par J. ANGELL-PAPA*

RÉSUMÉ. — Les fourmis de la tribu des Attines, communément appelées fourmis manioc, maintiennent dans leurs nids la monoculture d'un champignon qu'elles exploitent comme source de nourriture. Par quels processus le champignon cultivé reste-t-il dominant dans les conditions naturelles ? Nous avons montré que l'inhibition de la microflore bactérienne est due au maintien d'un pH voisin de 5,0 (sécrétions acides des fourmis). En outre, les champignons cultivés par les genres *Acromyrmex* et *Atta* manifestent des phénomènes d'antibiose vis-à-vis des bactéries. Cette activité antibiotique amplifie l'action précédente.

SUMMARY. — Attine ants (leaf-cutting ants) cultivate a single fungus in their nests and utilize this fungus as their food source. How the ants succeed in maintaining their fungus culture in spite of contamination in natural condition ? We have show that the main reason of the inhibition is due to the acidity of pH (pH = 5,0 acid secretions). The fungus associated with the genera *Acromyrmex* and *Atta* are ■ source of antibiotics; this antibiotic activity complete the precedent action.

MOTS CLÉS : Attines, Champignon, Flore microbienne, Antibiose.

INTRODUCTION

La culture d'un champignon est une des pratiques les plus remarquables des fourmis de la tribu des Attines, bien connues dans les régions tropicales américaines (WEBER, 1979). Sur les fragments végétaux transportés et emmagasinés dans les nids souterrains, les fourmis maintiennent la monoculture d'un champignon qu'elles exploitent comme source de nourriture (QUINLAN & CHERETT, 1979). La vie de la société et l'extension des espèces repose sur la réussite de la culture.

* Ce travail a été réalisé au Centre de Recherches des Antilles Guyane, Petit Bourg, Guadeloupe, 97170.

Adresse actuelle : Muséum National d'Histoire Naturelle, Laboratoire de Cryptogamie, 12 rue Buffon, 75005 Paris.

Par quel mécanisme ce champignon cultivé reste-t-il dominant dans le milieu contaminé que représente le nid ? En effet, il existe dans cet écosystème de nombreux champignons compétiteurs (ANGELI-PAPA J., non publié) et une flore bactérienne importante (PAPA F. & PAPA J., 1982). Le nid héberge également des levures, mais celles-ci ne semblent pas entrer en compétition avec le champignon cultivé (CRAVEN & al., 1970).

Lors d'une étude précédente (PAPA J. & PAPA F., 1982) nous avons montré que le maintien dans le nid d'un pH voisin de 5,0 était capable d'inhiber la croissance des bactéries. A cet effet majeur pourrait s'adjoindre l'action d'autres composés chimiques possédant des propriétés inhibitrices. Ces substances pourraient être apportées par les végétaux, la fourmi ou les champignons.

CHERRETT (1972) a constaté que la fourmi effectue un choix de récolte parmi les végétaux de l'environnement. Si le choix n'a pas d'influence directe sur le développement du champignon, il est permis de penser qu'il peut exercer une action vis-à-vis des compétiteurs bactériens.

L'hypothèse d'un contrôle possible par un antibiotique a été émise dès 1954 par SUTER. Par la suite, WEBER (1955) a suggéré qu'il pouvait s'agir d'un agent chimique présent dans la salive des fourmis. Les travaux de MARTIN & al. (1969) qui tentaient de vérifier cette hypothèse ont abouti à un échec. Aucun antibiotique n'a pu être décelé chez les fourmis ni dans la culture de leur champignon. Les travaux de MASCHWITZ & al. (1970), de SCHILDKNECHT (1971), SCHILDKNECHT & KOOK (1971) et SCHILDKNECHT & al. (1973) apportent des preuves expérimentales à l'hypothèse d'un contrôle chimique. Des glandes métathoraciques d'*Atta sexdens*, ces chercheurs isolent la myrmicacine (ou acide hydroxydecanoïque), l'acide phénylacétique, l'acide indolylacétique. Ces acides carboxyliques formés en petites quantités dans les glandes et émis de manière continue dans le nid pourraient, selon ces auteurs, jouer un rôle protecteur en inhibant la croissance des microorganismes étrangers.

Enfin, le champignon peut jouer un rôle de prévention dans la contamination du nid. HERVEY & NAIR (1979) ont apporté un argument en faveur de cette théorie en isolant un antibiotique, la lipochlorine, à partir du champignon cultivé par une espèce primitive, *Cyphomyrmex costatus*.

Le but de ce travail est de compléter ces recherches en essayant de préciser le rôle joué par les divers partenaires du nid que sont les végétaux, la fourmi et son champignon vis-à-vis des compétiteurs bactériens.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.- MÉTHODE

Souches bactériennes utilisées

Pour mettre en évidence l'activité inhibitrice, nous avons utilisé huit souches bactériennes. Six d'entre elles sont des souches provenant de la collection de

L'Institut Pasteur et deux ont été isolées en Guadeloupe. Leurs caractéristiques sont résumées dans le Tableau I.

Provenance	Gram	Désignation	Référence	Marquage
Institut Pasteur	+	<i>Bacillus subtilis</i>	53.174	B.S.
	+	<i>Sarcina lutea</i>	53.45	S.L.
	+	<i>Staphylococcus aureus</i> Oxford	A.268	S.O.
	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	A.13	P.P.
	-	<i>Serratia marcescens</i>	A.173	S.M.
	-	<i>Escherichia coli</i> K 12	C.600	K.12
Guadeloupe	-	<i>Chromobacterium violaceum</i>		C.V.
	-	<i>Salmonella panama</i>		S.P.

Tableau I. — Caractéristiques des souches bactériennes utilisées.

Table I. — Characteristics of the utilized bacterial strains.

Les germes tests provenant d'une culture de 24 heures sont mis en suspension dans un bouillon nutritif gélosé à 2 g p. 1000. Leur densité est calculée de manière à obtenir, après culture, des colonies séparées. La suspension est utilisée soit en étalement de surface, soit sous forme de gouttes.

Choix et provenance des végétaux

Les différents échantillons de feuilles et fleurs étudiés pour leur activité inhibitrice ont été prélevés sur plusieurs espèces habituellement récoltées dans l'environnement par *Acromyrmex octospinosus*. Il s'agit de : Hibiscus (*Hibiscus rosa-sinensis*), Flamboyant (*Delonix* sp.), Citronnier (*Citrus* sp.), Manioc (*Manihot* sp.), Igname (*Discorea trifida*), Mapou (*Cordia* sp.).

Récolte des fourmis

Il s'agit d'*Acromyrmex octospinosus*, seule espèce présente en Guadeloupe.

Souches de champignons

Provenance	Espèce fourmi	Référence	Marquage
Guadeloupe	<i>Acromyrmex octospinosus</i>	7801	A 1
		7802	A 2
		7804	A 6
		7805	A 7
Guyane	<i>Atta cephalotes</i>	7901	A 3
		8009	A 16
	<i>Atta sexdens</i>	7902	A 4
		8008	A 15

Tableau II. — Caractéristiques des souches de champignons utilisées.

Table II. — Characteristics of the utilized fungal strains.

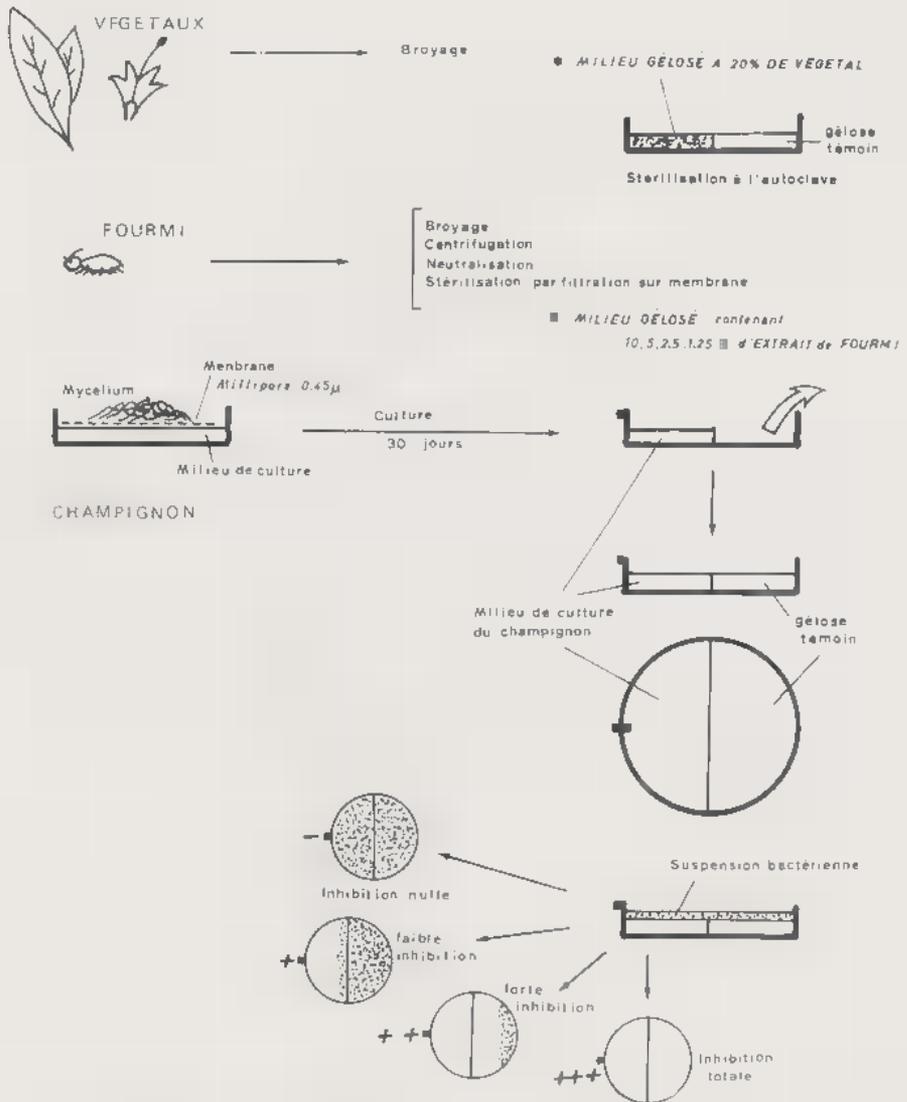


Fig. 1. — Méthodes d'étude- Préparation des milieux de culture à base de végétaux, de fourmis et de champignons. Évaluation de l'inhibition.

Fig. 1. — Methods - Preparation of the several cultural media : natural media with leaves extracts, ants extracts and fungi extracts. Evaluation of the inhibition.

Elles ont été isolées de nids de différentes espèces de fourmis champignonnistes. Leurs caractéristiques figurent dans le Tableau II. Ces souches proviennent des départements français de Guadeloupe et de la Guyane. Les souches d'*Acromyrmex* en provenance de Guadeloupe ont été isolées dans différents lieux du département. Un article antérieur (BARBIER & al., 1981) a précisé leur identité sur le plan immunologique.

2.-MÉTHODES D'ÉTUDE

Outre la gélose témoin, différents milieux sont préparés à partir de végétaux, fourmis et champignons (Voir schéma, fig. 1).

Gélose témoin : agar 15 g, ClNa 8,5 g, eau 1000 ml.

Végétaux : Les jeunes feuilles et fleurs récoltées, lavées, sont broyées finement. Ce broyat est utilisé pour la fabrication d'un milieu gélosé où sa concentration est de 20 %. (200 g de feuilles pour 1 litre d'eau).

Fourmis : Les fourmis proviennent d'un nid d'*Acromyrmex octospinosus*; seuls les éléments adultes sont utilisés dans notre expérience.

Champignons : Les différentes souches de champignons sont cultivées sur le milieu suivant : glucose 10 g, malt 3 g, levure 3 g, peptone 5 g, eau distillée 1000 ml, agar 15 g. L'inoculum est déposé sur une membrane millipore de porosité 0,45 μ qui couvre la surface du milieu (Fig. 1). Après 30 jours de culture la membrane et le champignon sont enlevés et la gélose sous-jacente est seule utilisée dans nos essais. La moitié du milieu est enlevée stérilement et remplacée par la gélose témoin. Le milieu final estensemencé en surface par une couche de gélose molle contenant des bactéries.

La lecture des différents essais est effectuée après une incubation de 48 h à l'étuve à 37°C.

RÉSULTATS

1- Milieux végétaux

La suspension bactérienne se développe uniformément à la surface de tous les milieux préparés avec différents végétaux. Aucune inhibition n'est à signaler.

2- Milieux à base de fourmis

De même, sur ces milieux, aucune inhibition n'est à signaler.

3- Action des différentes souches de champignon.

Les résultats obtenus figurent sur le Tableau III. Toutes les préparations obtenues après culture des souches fongiques associées à *Acromyrmex octospinosus*, *Atta sexdens*, et *Atta cephalotes* inhibent les différentes souches bactériennes. L'activité antibactérienne dépend, comme l'indique le Tableau III,

Champignons utilisés	Souches bactériennes							
	BS	SL	SO	BP	SM	K 12	CV	SP
A 1	+	++	++	+	+	++	++	++
A 2	++	++	++	+	++	+	++	+
A 6	++	+++	++	++	++	+++	++	++
A 7	++	+++	+	+	++	++	++	++
A 3	++	+++	++	+++	++	+++	++	+
A 16	++	++	++	++	+	++	++	+
A 4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
A 15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
TEMOIN O	Culture en colonies séparées							

Tableau III. — Action des substances émises par les champignons (souches cultivées par *Acromyrmex octospinosus*, *Atta sexdens* et *Atta cephalotes*) sur différentes souches bactériennes. - Évaluation de l'inhibition : voir fig. 1.

Table III. — Activity of the substances, produced by the fungus cultivated by *Acromyrmex octospinosus*, *Atta sexdens* and *Atta cephalotes* on different bacterial strains. - Evaluation of the inhibition : see fig. 1.

de la souche de champignon utilisée ainsi que des souches bactériennes. Les facteurs présents dans le milieu, après culture d'un champignon, agissent à la fois sur les bactéries gram positif et gram négatif.

DISCUSSION ET CONCLUSION

En dehors de l'action inhibitrice provoquée par les sécrétions acides des fourmis, nous avons étudié la possibilité d'une action supplémentaire causée par les différents partenaires du nid. Dans les conditions de notre expérience, les végétaux, quoique sélectionnés par les fourmis, n'exercent aucune influence sur le ralentissement du développement bactérien. Il en est de même pour les milieux à base de fourmis.

Comme l'avaient précédemment remarqué HERVEY & NAIR, à propos de *Cyphomyrmex costatus*, les différentes souches de champignons cultivés par

Acromyrmex octospinosus, *Atta sexdens* et *Atta cephalotes* exercent une action inhibitrice certaine vis-à-vis des différentes souches bactériennes utilisées. Il est cependant permis de penser que cette action reste faible puisqu'elle n'a pas été décelée par MARTIN & al. (1969), ni dans notre étude antérieure du nid (PAPA J. & PAPA F., 1982). L'activité antibactérienne dépend en partie des méthodes d'investigation. Nous avons employé une méthode utilisant la libération de substance durant les 30 jours de culture mycélienne, ce qui a permis la mise en évidence de l'inhibition. La présence d'antibiotique dans le milieu de culture est ainsi démontrée; cette action antibiotique, du fait de la faible concentration reste probablement bactériostatique (comme les résultats de l'étude microbiologique du nid l'avaient montré, PAPA F. & PAPA J., 1982; aucun effet léthal ne se manifestant dans le nid).

Il ne faut pas négliger, dans le maintien de la dominance, certains caractères de technique culturale qui tendent à privilégier le champignon cultivé. La localisation du nid dans le sol assure des conditions d'environnement constantes (température 25°-27°, humidité 80 %, taux de CO₂ élevé) qui favorisent la croissance végétative du champignon. La fabrication du substrat (QUINLAN & CHERRETT, 1977) où interviennent les sécrétions salivaires et les liquides fécaux, l'inoculation par bouturage mycélien sans phase de latence, l'importance de l'inoculum de masse permettent un envahissement extrêmement rapide du substrat.

En résumé, l'inhibition des bactéries dans le nid se réalise de la manière suivante :

- Inhibition majeure par un pH maintenu constamment ■ voisinage de 5.
- Action de facteurs de sécrétion contenus dans les glandes métathoraciques (SCHILDKNECHT, 1971)
- Action d'antibiotiques émis par le champignon cultivé.

L'identification de ces substances antibiotiques émises par les champignons nécessiterait des études supplémentaires. Le fonctionnement de cet équilibre biologique favorisant la prédominance du champignon cultivé est remarquable. Il est assuré par la présence active des fourmis et les propriétés bactériostatiques particulières du champignon cultivé par les Attines.

BIBLIOGRAPHIE

- BARBIER D., PAPA J. & PAPA F., 1981 — Étude sérologique préliminaire du champignon cultivé par la fourmi manioc, *Acromyrmex octospinosus* Reich en Guadeloupe. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 74 : 164-170.
- CHERRETT J.M., 1972 — Some factors involved in the selection of vegetable substrate by *Atta cephalotes* (L.) (Hymenoptera : Formicidae) in tropical rain forest. *J. Anim. Ecol.* 41 : 647-660.
- CRAVEN S.E., DIX M.W. & MICHAELS G.E., 1970 — Attine Fungus Gardens contain

- yeast. *Science* 169 : 184-186.
- HERVEY A. & NAIR M.S.R., 1979 — Antibiotic metabolite of a fungus cultivated by gardening ants. *Mycologia* 71 : 1064-1066.
- MARTIN M.M., Mac CONNELL J.G. & GALE G.R., 1969 — The chemical basis for Attine ant fungus symbiosis. Absence of antibiotics. *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 62 : 386-388.
- MASCHWITZ U., KOOB K. & SCHILDKNECHT H., 1970 — Ein Beitrag zur Funktion der metathoracaldrüse der ameisen. *J. Insect Physiol.* 16 : 387-404.
- PAPA F. & PAPA J., 1982 — Étude de l'activité microbiologique dans les nids d'*Acromyrmex octospinosus* Reich en Guadeloupe. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 75 : 404-414.
- PAPA J. & PAPA F., 1982 — Inhibition des bactéries dans les nids d'*Acromyrmex octospinosus* Reich en Guadeloupe. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 75 : 415-425.
- QUINLAN R.J. & CHERRETT J.M., 1977 — The role of substrate preparation in the symbiosis between the leaf cutting ant *Acromyrmex octospinosus* Reich and its food fungus. *Ecol. Entomol.* 2 : 161-170.
- QUINLAN R.J. & CHERRETT J.M., 1979 — The role of fungus in the diet of the leaf cutting ant *Atta cephalotes* (L.). *Ecol. Entomol.* 4 : 151-160.
- SCHILDKNECHT H., 1971 — Sommets d'évolution dans la chimie défensive des insectes. *Endeavour* 30 : 136-141.
- SCHILDKNECHT H. & KOOB K., 1971 — Myrmicacin, the first herbicide. *Angew. Chem.* 10 : 124-125.
- SCHILDKNECHT H., REED D. & KOOB K., 1973 — Auxin activity in the symbiosis of leaf cutting ants and their fungus. *Insect Biochem.* 3 : 439-442.
- SUTTER V., 1954 — The possibility of antibiotic control of the microflora of the Bachac nest. *Trans. 5th Intern. Congr. Soil Sci.* 5 : 113-118.
- WEBER N.A., 1955 — Pure cultures of fungi produced by ants. *Science* 122 : 109.
- WEBER N.A., 1979 — Insect Fungus Symbiosis : Fungus culturing by Ants. Allanheid, Osmum, Monclair, Batra Ed., 77-116.



Dépôt légal n° 12153 - Imprimerie de Montligeon
Sorti de presses le 15 septembre 1984

CRYPTOGAMIE – MYCOLOGIE

BUREAU DE RÉDACTION

- MM. DURRIEU G., pour les articles traitant d'Écologie et de **Phytopathologie**
Laboratoire de Botanique, Faculté des Sciences,
Allées Jules Guesde, 31 000 Toulouse (France).
- JOLY P., pour les articles traitant de **Systématique**
Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle
12, rue de Buffon, 75005 Paris (France).
- MANACHERE G., pour les articles traitant de **Physiologie**
Laboratoire de Mycologie, Université de Lyon I,
43, Bd du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex (France).
- Mmes ZICKLER D., pour les articles traitant de **Cytologie**
Laboratoire de Génétique, Université de Paris Sud,
Bât. 400, Centre d'Orsay, 91405 Orsay (France).
- ROQUEBERT M.F., s'occupera des autres spécialités.
Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle
12, rue Buffon, 75005 Paris (France).

COMITÉ DE LECTURE

- | | |
|--|------------------------------------|
| BOIDIN J., Lyon (France) | MONTANT Ch., Toulouse (France) |
| CHEVAUGEON J., Orsay (France) | MOREAU Cl., Brest (France) |
| GAMS W., Baarn (Hollande) | PEGLER D.N., Kew (Grande-Bretagne) |
| HENNEBERT G., Louvain-la-Neuve
(Belgique) | SUTTON B., Kew (Grande-Bretagne) |
| LACOSTE L., Lille (France) | TURIAN G., Genève (Suisse) |

Les manuscrits doivent être adressés (en 3 exemplaires) directement à un membre du Bureau de Rédaction, choisi pour sa spécialité. Chaque membre du Bureau se charge d'envoyer l'article à 2 membres du Comité de Lecture (ou autres lecteurs compétants).

Bien qu'étant avant tout une revue de langue française, les articles rédigés en Anglais, Allemand et Espagnol sont acceptés.

Les recommandations aux auteurs sont publiées dans le 1^{er} fascicule de chaque tome.

ABONNEMENTS A CRYPTOGRAMIE - MYCOLOGIE

Tome 5, 1984

France	210 F
Étranger	230 F

REVUE DE MYCOLOGIE

Prix des Tomes 1 à 43 :	France : 120 F	Étranger : 130 F
Collections complètes :	réduction de 20 % par tome.	
Prix du fascicule séparé :	France : 35 F	Étranger : 45 F

CRYPTOGAMIE - MYCOLOGIE

Prix des Tomes 1 à 3 :	France : 190 F	Étranger : 220 F
Prix du fascicule séparé :	France : 50 F	Étranger : 60 F

MÉMOIRES HORS SÉRIE DISPONIBLES

- N^o 2 (1942). Les matières colorantes des champignons, par I. Pastac. 88 pages : 15 F.
- N^o 3 (1943). Les constituants de la membrane chez les champignons par R. Ulrich. 44 pages : 15 F.
- N^o 7 (1959). Les champignons et nous (Chroniques) (II), par G. Becker. 94 pages : 25 F.
- N^o 8 (1966). Catalogue de la Mycothèque de la Chaire de Cryptogamie du Muséum National d'Histoire Naturelle. (I) Micro-mycètes, Macromycètes (première partie). 68 pages : 25 F.
- N^o 9 (1967). Table des Matières (1936-1965) 85 p. 20 F. - (1966-1975) 40 p. 10 F.

FLORE MYCOLOGIQUE DE MADAGASCAR ET DÉPENDANCES,

publiée sous la direction de M. Roger HEIM.

- Tome I. Les Lactario-Russulés, par Roger HEIM (1938) (*épuisé*).
- Tome II. Les Rhodophylles, par H. Romagnesi (1941), 164 pages, 46 fig. : 60 F.
- Tome III. Les Mycènes, par Georges Métrod (1949), 144 pages, 88 fig. : 60 F.
- Tome IV. Les Discomycètes de Madagascar, par Marcelle Le Gal (1953), 465 pages, 172 fig. : 90 F.
- Tome V. Les Urédinées, par Gilbert Bouriquet et J.P. Bassino (1965), 180 pages, 97 fig., 4 pl. hors-texte : 60 F.

Règlements :

- par virement postal au nom de Cryptogamie - Revue de Mycologie
12, rue de Buffon, 75005 PARIS, C.C.P. PARIS 6 193 02 K;
- par chèque bancaire établi au même ordre.